

Der Einfluß von
Alkanolen und Pheromonen auf die
Phasenumwandlungstemperaturen
von Modellmembranen

von

Reinhard Wax
aus Wallersdorf

Diss. Erlangen

1084 NR 392

Der Einfluß von Alkanolen und Pheromonen auf die Phasenumwandlungstemperaturen von Modellmembranen

Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Reinhard Wax
aus Wallersdorf

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaft-
lichen Fakultäten der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juli 1984

Vorsitzender der

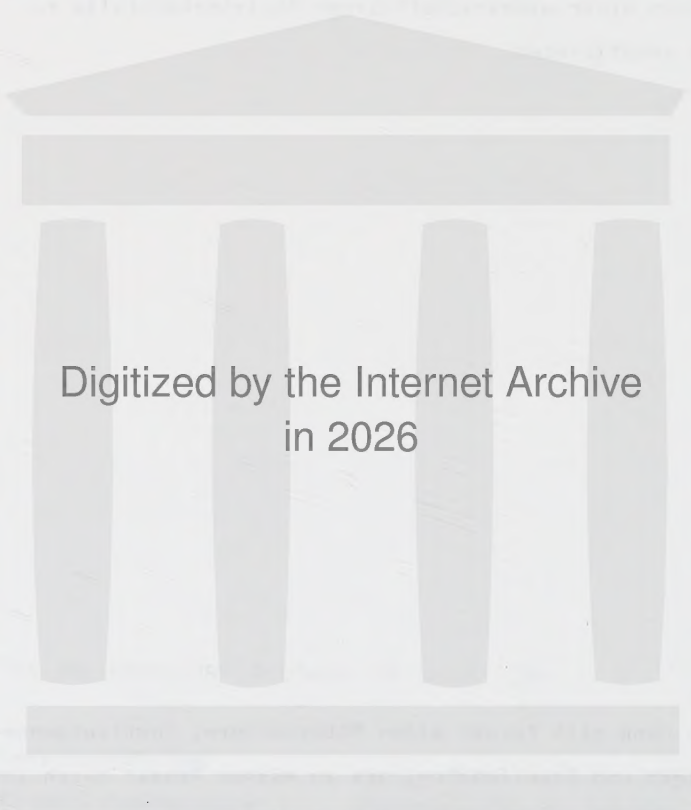
Promotionskommission : Professor Dr. K. Jacobs

Erstberichterstatte r : Professor Dr. H. J. Bestmann

Zweitberichterstatte r : Professor Dr. G. Hesse

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. H. J. Bestmann
bin ich für die Überlassung des Themas, für manche wert-
volle Anregungen, sein gezeigtes Interesse am Fortgang
der Arbeit sowie für die zweijährige Übertragung der Ver-
waltung einer wissenschaftlichen Assistentenstelle zu
Dank verpflichtet.

Mein Dank gilt ferner allen Mitarbeitern, Institutsange-
hörigen und Praktikanten, die zu meiner Arbeit durch ihre
tatkräftige Unterstützung beigetragen haben.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546206_0010

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. <u>Einleitung</u>	1
II. <u>Allgemeiner Teil</u>	6
1. Membranarchitektur, Lipidstrukturen und Membranmodelle	6
1.1. Membranlipide	6
1.2. Membranarchitektur und Membranmodelle	12
1.3. Membrandynamik und Membrantransport	20
2. Aggregatzustandsänderungen in Membranen und Lipiden	25
2.1. Interne Faktoren der Phasenumwandlung	29
2.2. Externe Faktoren der Phasenumwandlung	42
3. Modellbetrachtungen zum Umwandlungsmechanismus	59
3.1. Die Hauptumwandlung	59
3.2. Die Vorumwandlung	74
3.3. Die Subumwandlung	85
4. Experimentelle Meßmethoden zum Nachweis der Lipidphasen	90
III. <u>Spezieller Teil</u>	93
1. Fluoreszenzmessungen an Modellmembranen	93
1.1. Fluoreszenzspektroskopische Grundlagen	93
1.2. Der Fluorophor als Phasenmonitor	97

1.3.	Ist die Lipidphasenumwandlung an der Pheromonrezeption beteiligt?	100
2.	Verwendete Materialien und Meßverfahren	104
2.1.	Die Lipidmatrix	104
2.2.	Untersuchte Fluoreszenzindikatoren und Pheromone bzw. Pheromonanaloge	106
2.3.	Signalregistrierung	120
IV.	<u>Experimentelle Ergebnisse</u>	122
1.	Tabellarische Übersicht	130
1.1.	DML als Matrix	132
1.1.1.	Alkanole in DML	132
1.1.2.	Z-9-Tetradecenol in DML	141
1.1.3.	E-9-Tetradecenol in DML	142
1.1.4.	Z-9,Z-11-Tetradecadienol in DML	143
1.1.5.	Z-9-Tetradecenylacetat in DML	144
1.1.6.	E-9-Tetradecenol in DML	144
1.1.7.	Z-11-Hexadecenol in DML	145
1.1.8.	E-11-Hexadecenol in DML	146
1.1.9.	Z-11,Z-13-Hexadecadienol in DML	146
1.1.10.	Z-13-Octadecenol in DML	147
1.1.11.	Z-13-Octadecenylacetat in DML	149
1.1.12.	Z-13-Octadecenal in DML	149
1.2.	DPL als Matrix	150
1.2.1.	Alkanole in DPL	150
1.2.2.	Z-9-Tetradecenol in DPL	166

	Seite
1.2.3. E-9-Tetradecenol in DPL	167
1.2.4. Z-9,Z-11-Tetradecadienol in DPL	167
1.2.5. Z-9-Tetradecenylacetat in DPL	168
1.2.6. E-9-Tetradecenal in DPL	169
1.2.7. Z-11-Hexadecenol in DPL	170
1.2.8. E-11-Hexadecenol in DPL	170
1.2.9. Z-11,Z-13-Hexadecadienol in DPL	171
1.2.10. Z-13-Octadecenol in DPL	172
1.2.11. Z-13-Octadecenylacetat in DPL	172
1.2.12. Z-13-Octadecenal in DPL	173
1.3. DSL als Matrix	175
1.3.1. NPN-Leerkurven von DSL	175
1.3.2. Tetradecanol in DSL	176
1.3.3. Alkohole in DSL	176
1.4. Lecithingemische	176
1.4.1. Gemische aus zwei Lecithinen	177
1.4.2. Gemische aus drei Lecithinen	179
2. Diskussion der Ergebnisse	180
2.1. Vorumwandlung und Alkanolstruktur	183
2.2. Vorumwandlung und Pheromonstruktur	194
2.3. Die Umwandlungstemperaturen als Funktion der Konzentration	204
3. Deutung der beobachteten Phänomene	220
4. Ausblick	295
V. <u>Zusammenfassung</u>	298
VI. <u>Literaturverzeichnis</u>	303

I. Einleitung

Die kleinste Einheit, in der sich sämtliche Grundfunktionen des Lebens nachweisen lassen, ist die Zelle. Sie ist zugleich das kleinste offene System, das sich selbst im Zustand des Fließgleichgewichtes erhält. Ein offenes System tauscht mit der Umwelt sowohl Energie als auch Stoff und Information aus; ein Fließgleichgewicht ist diejenige Form eines offenen Systems, die durch das größtmögliche Maß an Ordnung beziehungsweise die geringstmögliche Entropiezunahme gekennzeichnet ist. Das zeigt sich z. B. daran, daß die Konzentrationen von Baustoffen mehr oder weniger konstant gehalten werden können, obwohl ein ständiger Fluß von Energie und Materie das System durchströmt. Das Gleichgewicht, in dem sich ein offenes System befindet, ist daher ein dynamischer Zustand, der durch die Investition von Arbeit aufrechterhalten werden muß.

Zur Abgrenzung nach außen ist jede Zelle an ihrer Oberfläche von einer Zellwand umgeben. Diese Plasmamembran trennt den Innenraum der Zelle vom Außenraum und reguliert den Stoffaustausch zwischen Zelle und Umgebung. Zellen von Eukaryoten (z. B. Säugetiere) beinhalten daneben eine Anzahl von intrazellulären Membranen und membranumgebene Organellen wie Mitochondrien und Zellkerne, welche das Innere der Zelle in unterschiedliche Räume aufteilen. Zusammensetzung und Stoffwechsel der einzelnen

zellulären Kompartimente werden durch die spezifischen Eigenschaften dieser verschiedenen Cytomembranen gesteuert. Neben die Barrieren- tritt also eine Transportfunktion: Membranen wählen aus einer Unmenge angebotener Ionen und Moleküle nur jene relativ wenigen Permeanden aus, welche die Zelle benötigt beziehungsweise ausscheiden muß. Die den Transport bewerkstelligenden Bestandteile der Membranen sind Proteine mit charakteristischer Kettenkonformation, die - wie Enzyme - bestimmte Molekülgestalten oder Ionengrößen dadurch erkennen, daß sie Paßformen für die Permeanden bereithalten; sie bewirken aktiven Transport oder katalysierte Permeation.

Biologische Membranen sind selektiv permeabel, d. h. sie lassen Wasser durchtreten, gelöste Teilchen aber unterschiedlich schwer oder gar nicht.

Diese unterschiedliche Permeabilität hängt vor allem von zwei Parametern ab, von der Teilchengröße zum einen und der Hydro- beziehungsweise Lipophilie zum anderen:

Je kleiner der effektive Teilchenradius ist, umso größer ist die Permeationsrate und je lipophiler, d. h. je besser fettlöslich beziehungsweise je schlechter wasserlöslich ein Teilchen ist, desto leichter permeiert es.

Permeabilität und Wasserlöslichkeit sind - außer bei besonders kleinen Teilchen - umgekehrt proportional. Elektrisch geladene Teilchen, vor allem Ionen, sind hydrophil und durchdringen die Membran daher schwerer als gleich große, elektrisch neutrale Moleküle.

Diese Befunde sind erklärbar mit dem Vorhandensein einer mehr oder weniger fluiden Lipidphase in jeder Biomembran. Lipophile Teilchen können sich durch diese Lipidbarriere hindurchlösen, polaren Molekülen dagegen ist der Durchtritt verwehrt, es sei denn, sie sind klein genug, um im Lipidaggregat vorhandene Poren zur Permeation zu benutzen.

Generell sind also alle biologischen Membranen ähnlich zusammengesetzt; sie enthalten Proteine, wechselnde Mengen an polaren Lipiden und gewöhnlich noch geringe Anteile an Kohlenhydraten. Um aber die in einem Organismus erforderlichen, fast unüberschaubar vielfältigen und sehr unterschiedlichen Funktionen normgerecht erfüllen zu können, müssen diese drei Strukturelemente einer Membran in sehr weiten Grenzen variierbar und kombinierbar sein, denn jede spezielle Membran erfüllt ihren Zweck nur bei einer für sie charakteristischen Zusammensetzung und Struktur.

Eine der wesentlichen Funktionen biologischer Membranen ist die Kommunikation und der kontrollierte Transport zwischen den Unterstrukturen (Mitochondrien, Zellkern, endoplasmatisches Retikulum) der Zelle und zwischen der Zelle und ihrer Umwelt.

Membranen sind aber auch der Ort, an dem sich Enzyme zu funktionellen Gruppen, den Multienzymkomplexen, zusammenlagern können. Die Lipidkomponente einer Membran ist dann nicht mehr nur mittelbar, z. B. als Proteinträger, sondern unmittelbar an der biologischen Funktion beteiligt,

wofür im folgenden einige Beispiele aus der Literatur genannt seien:

- a) Phospholipide sind wichtig beim intrazellulären Proteinabbau durch das lysosomale Cathepsin D ⁽¹⁾.
- b) In *E. coli* ist die Fluidität der Zellmembran involviert in den Reparaturprozeß UV-bestrahlter Desoxyribonucleinsäure ⁽²⁾.
- c) Die Membranen der Nervenzellen leiten elektrische Impulse, wobei das Aktionspotential durch eine temporäre Permeabilitätsänderung der Nervenmembran für Natrium- und Kaliumionen zustandekommt; die hierfür nötige Konformationsänderung der Ionenkanäle teilt sich auch der umgebenden Lipidmatrix mit ⁽³⁾.
- d) Die Chemotaxis tierischer Blutzellen hängt ab von chemischen Änderungen der Lipide in den Membranen dieser Zellen ⁽⁴⁾.
- e) Die Absorption eines Photons durch Rhodopsin (ein Membranprotein) löst den visuellen Reiz aus. Die Geschwindigkeit der Umwandlung der hierbei auftretenden Rhodopsin-Zwischenstufen wird bei physiologischer Temperatur vornehmlich durch die Eigenschaften der hydrophoben Umgebung des Proteins beeinflusst ⁽⁵⁾.
- f) Im Zusammenhang mit der photoinduzierten Calciumfreisetzung aus Rhodopsin-Phospholipid-Membranvesikeln wird für das Calciumion eine mögliche Rolle als visueller Reiztransmitter diskutiert ^(6, 7).

- g) Kleine hydrophobe Moleküle modifizieren den durch Valinomycin (ein Ionophor) vermittelten Kaliumtransport durch Phospholipidvesikelmembranen (8).
- h) In Chloroplastenmembranen (bei der Photosynthese) findet man im Temperaturbereich zwischen 20 und 85°C sechs Phasenübergänge, den unterschiedlichen Strukturdomänen der Thylakoidmembran entsprechend, die man Teilen der stattfindenden Photoreaktion zuordnet (9).

II. Allgemeiner Teil

1. Membranarchitektur, Lipidstrukturen und Membranmodelle

1.1. Membranlipide

Allgemein bezeichnet man als Lipide Stoffe, die sich in Wasser nicht, in organischen Lösungsmitteln dagegen gut lösen. Bei den Lipiden der Zelle handelt es sich häufig um Ester von Fettsäuren. Man unterscheidet Speicherlipide (Fette, Öle) und Strukturlipide.

Zu den letzteren gehören - außer den Wachsen - die Membranlipide, die neben den Proteinen die zweite wichtige Komponente einer jeden Zellmembran ist.

Als Zellmembran versteht man dabei die bilamellare Lipid-Protein-Doppelschicht, die alle Zellen kontinuierlich umgibt und die Hauptbarriere für den Stoffaustausch zwischen Zelle und Umgebung darstellt. Das Verhältnis von Protein zu Lipid ist bei verschiedenen Zelltypen unterschiedlich; es gibt Membranen, bei denen der Proteinanteil überwiegt, und andere, bei denen der Lipidanteil dominiert (Tab. 1 (10));

Membran	Proteine	Lipide	Kohlenhydrate
Erythrozyt (Mensch)	54%	46%	
Leberzelle (Ratte)	68%	29%	3%
Myelinscheide	20%	80%	
Sehstäbchen, Außensegment	60%	40%	

Tab. 1: Chemische Zusammensetzung von Zellmembranen
(in % des Trockengewichtes)

Strukturlipide enthalten folgende Bausteine:

Langkettige Fettsäuren, gesättigt beziehungsweise ein- oder mehrfach ungesättigt, Glycerin oder Sphingosin, Phosphorsäure oder Zucker sowie 2-Aminoethanol oder sein Trimethylammoniumderivat.

Am einfachsten konstruiert sind die Sterollipide; hierbei handelt es sich um das Steroid Cholesterol (auch Cholesterin), das entweder als solches (Abb. 1) oder verestert mit einer Fettsäure als Strukturlipid Verwendung findet.

Die restlichen Strukturlipide kann man unterschiedlich klassifizieren: man teilt sie entweder, je nach dem beim Bau verwendeten zentralen Alkohol (Glycerin oder Sphingosin) in Glycero- und Sphingolipid ein, oder, nach dem Vorhandensein von Phosphorsäure oder Zucker, in Phospho-

oder Glykolipide. Einige Beispiele für die durch unterschiedliche Kombination der genannten Bausteine erhältlichen Strukturlipide zeigt Abb. 1.

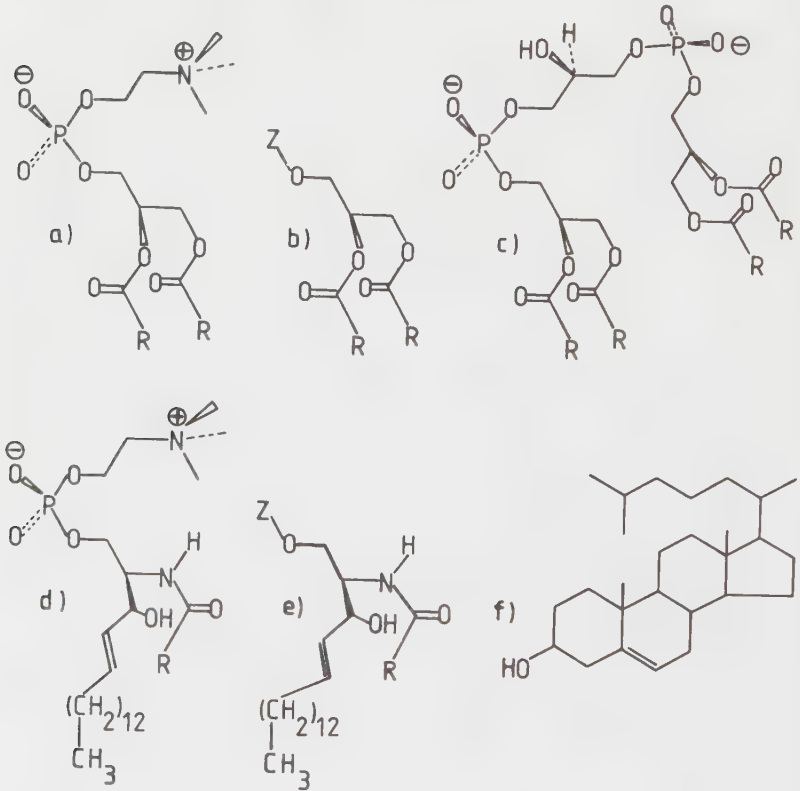


Abb. 1: Oben: Glycerolipide Lecithin (a), Glykolipid (b), Cardiolipin (c).

Unten: Sphingolipide Sphingomyelin (d), Gangliosid (e) und Sterollipid Cholesterol (f).
(Z: Zucker; R: Fettsäurerest).

Ein häufiges Phospholipid ist das Lecithin. Sein Bauplan ergibt sich aus der rationellen Bezeichnung, z. B. 1,2-Diacyl-glyceryl-phosphatidyl-cholin für ein α -Lecithin wie (a) in Abb. 1. Ist die zweite Hydroxylgruppe der Phosphorsäure statt mit Cholin mit 2-Aminoethanol verestert, so spricht man abgekürzt von Phosphatidylethanolamin, bei Veresterung mit 2-Amino-3-hydroxi-propansäure (Serin) von Phosphatidylserin.

Lecithine besitzen eine lipophile, unpolare Hälfte (Fettsäureketten) und eine hydrophile, polare (Glycerin, vor allem Phosphorsäure und Cholin beziehungsweise Serin oder Ethanolamin). Solche Moleküle sind oberflächenaktiv, d. h. sie ordnen sich bevorzugt an der Phasengrenze polarer Flüssigkeiten (Wasser) an und setzen deren Oberflächenspannung herab. Sie wirken also ähnlich wie Netzmittel, und man spricht von amphipolaren oder amphiphilen Stoffen.

Cardiolipin (Abb. 1 c) ist ebenfalls ein Phospholipid, und zwar ein 1,3-Bis(1,2-diacylglycerylphosphatidyl-) - glycerin. Dieses Membranlipid macht bei Bakterien bis über ein Viertel der Gesamtlipide aus, während es sich bei höheren Organismen nur in der inneren Mitochondrienmembran findet.

Außer Lecithin und Cardiolipin gibt es zahlreiche weitere Beispiele für amphipolare Lipide.

Einerseits kann bei Phospho- wie Glykolipiden das Glycerin durch den Aminoalkohol Sphingosin ersetzt sein,

der selbst eine unpolare Kohlenwasserstoffkette besitzt und an seiner Aminogruppe eine langkettige Fettsäure trägt (Sphingolipide, Abb. 1 d, e, S. 8).

Andererseits kann der polare Rest variieren. Liegen statt Phosphosäureestern Glycoside vor (Abb. 1 b, e), so spricht man von Glycolipiden. Die Kohlenhydrate (mit Z abgekürzt in Abb. 1) in Glykolipiden und Glykoproteinen verleihen der Zelloberfläche charakteristische Eigenschaften, die in der Zell-Zell-Erkennung wahrscheinlich eine Rolle spielen.

Cholesterol (Abb. 1 f) ist ein unpolares Membranlipid. Der zu den Steroiden gehörende, einfach ungesättigte Kohlenwasserstoff besitzt nur eine einzige Hydroxylfunktion. Cholesterol, das bei höheren Organismen bis zu einem Drittel der Lipidfraktion ausmachen kann, ist in seiner Verbreitung dem Cardiolipin komplementär; es fehlt also in Plasmamembranen von Bakterien und auch in der inneren Mitochondrienmembran.

Organismus- und organspezifische Unterschiede gibt es, analog zum Protein-Lipid-Verhältnis, auch bei der Verteilung der einzelnen Lipidkomponenten ⁽¹⁰⁾ (s. Tab. 2, S. 11). Ein Beispiel für die Verteilung von Fettsäureketten ⁽¹⁰⁾ zeigt Tab. 3 (S. 12).

Membran	Phospholipid	Sphingomyelin	Cholesterol
Erythrozyt (Mensch)	50%	18%	32%
Leberzelle (Ratte)	52%	19%	29%

Tab. 2a: Zusammensetzung der Membranlipide

Membran	Phosphatidyl- cholin	Phosphat- idylinositol und -serin	Phosphat- idylethanol- amin
Erythrozyt (Mensch)	34%	32%	34%
Leberzelle (Ratte)	47%	23%	30%
Nierenzelle (Lumen, Ratte)	27%	40%	33%

Tab. 2b: Zusammensetzung der Phospholipide

Palmitin- säure	Stearin- säure	Öl- säure	Linol- säure	Ara- chidon- säure	Rest
(16:0)	(18:0)	(18:1)	(18:2)	(20:4)	
35%	13%	19%	21%	5%	7%

Tab. 3: Zusammensetzung der Fettsäuren im Phosphatidyl-
cholin aus Erythrocyten des Menschen
(Zahlen in Klammern geben die Kettenlänge und
die Zahl der Doppelbindungen an).

1.2. Membranarchitektur und Membranmodelle

Die Ursache für typische Membraneigenschaften wie hoher elektrischer Widerstand und Impermeabilität für Ionen und polare Stoffe ist zweifelsohne der Lipidanteil von Membranen. Andererseits sind Membranen wegen der Lipide und ihrer quasi polymeren Struktur in der Membran relativ gut durchlässig für unpolare Verbindungen.

Infolge ihrer hohen Lipidlöslichkeit können z. B. Anästhetika ⁽⁴⁷⁾ die Nervenmembran durchdringen. Das Inhalationsanästhetikum Halothan vergrößert bereits bei klinisch angewandten Konzentrationen sowohl die Fluidität der Membran, wie es auch den Sphingomyelin-Abbau durch membrangebundene, neutrale Sphingomyelinase von synaptosomaler Plasmamembran stimuliert ⁽¹¹⁾.

Für die Anordnung von Lipidmolekülen in Plasmamembranen hat sich in den letzten fünfzig Jahren ein Modell durchgesetzt: das der Lipid-Doppelschicht.

Dieser Strukturvorschlag stammt von Gorter und Grendel (1925); sie verglichen die Fläche eines monomolekularen Filmes von Erythrocytenlipiden an einer Wasseroberfläche mit der Gesamtoberfläche der Zellen, aus denen die Lipide extrahiert worden waren. Da das Verhältnis der Fläche des Filmes der extrahierten Lipide zu der Fläche der intacten Zellen etwa zwei war, schlossen sie daraus, daß die Zellen mit einer zwei Moleküle dicken Lipidschicht bedeckt sind. Da im Gegensatz zum Film an der Wasseroberfläche der Film an der Zelloberfläche auf beiden Seiten an Wasser grenzt, nahmen sie ferner an, daß die beiden Einzelschichten in entgegengesetzter Richtung orientiert sind, sodaß die hydrophilen Gruppen der Lipide die beiden Oberflächen der Doppelschicht und die Kohlenwasserstoffketten eine hydrophobe innere Phase bilden. Obwohl diese Beobachtungen die zweite Komponente aller biologischen Membranen, die Proteine, nicht berücksichtigen, besteht auf Grund einer Vielzahl von Untersuchungen heute kein Zweifel daran, daß die Lipiddoppelschicht ein oder vielmehr das gemeinsame Strukturelement von Membranen ist.

Eines der besten Argumente für die generelle Existenz einer Lipiddoppelschicht in biologischen Membranen ist die thermodynamische Stabilität von Modell-Doppelschicht-

ten. Doppelschicht-Anordnungen von amphiphilen Lipiden haben einen minimalen Energieinhalt, der sich hauptsächlich aus der Eliminierung von Kontaktflächen zwischen Kohlenwasserstoffketten und Wassermolekülen ergibt. Die Anordnung in einer Doppelschicht beruht auf der räumlichen Trennung der polaren und unpolaren Gruppen in den Lipidmolekülen. Die hydrophoben Anteile der Lipide sind vom Wasser ausgeschlossen und assoziieren gegenseitig. Die polaren Kopfgruppen assoziieren sowohl miteinander als auch mit der umgebenden wässrigen Phase. Typische Membranlipide bilden daher hydratisiert spontan smektische oder lamellare Mesophasen, die aus regelmäßig angeordneten Doppelschichten bestehen.

Um 1935 wurde von Danielli und Davson auch die bisher vernachlässigte Proteinkomponente ins Membranbild inkorporiert; sie postulierten, daß in Membranen beide Oberflächen der Lipiddoppelschicht von Proteinen belegt sind. Dieses Modell wird von der Elektronenmikroskopie direkt bestätigt. Im Querschnitt stellt sich eine typische Membran trilaminar dar: zwei dunkel-kontrastierte äußere Lagen sind durch eine elektronentransparente Zwischenlage getrennt. Das wird so gedeutet, daß der helle Zwischenraum einer Lipidphase entspricht, die dunklen Grenzlinien dagegen Proteinschichten, welche den halbfluiden Lipidfilm stabilisieren. Die Dicke der drei Schichten beträgt ca. 5 - 10 nm; damit nähert sich die Dicke einer Elementarmembran molekularen Dimensionen.

Die Ausbildung der Lipiddoppelschicht oder bimolekularen Membran (Abb. 2, S. 16) beruht übrigens weniger auf einer gegenseitigen Anziehung der Kohlenwasserstoffketten der Fettsäurereste der Lipide; diese ist sogar ausgesprochen schwach (London - van der Waals-Kräfte). Vielmehr werden die Lipidmoleküle durch das umgebende Wasser zusammengeschoben. Daher bestehen in polaren Medien wie Wasser scheinbar relativ feste Bindungen zwischen den Kohlenwasserstoffketten der Lipidmoleküle, die hydrophoben Wechselwirkungen.

Diese Kräfte sind es, die aus kleinen, zur Bildung von echten Makromolekülen nicht befähigten Lipidteilchen wichtige Strukturbildner machen.

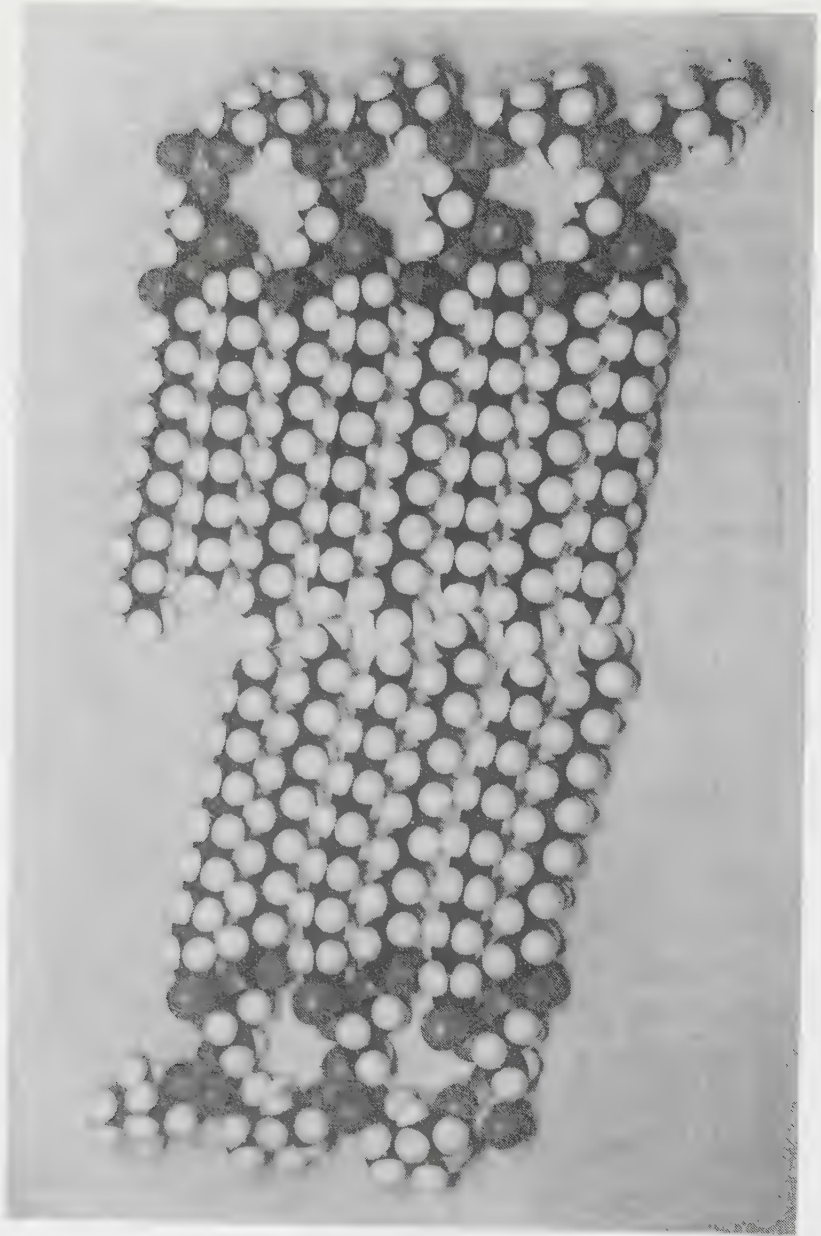


Abb. 2: Kalottenmodell der DPL-Lipiddoppelschicht.

Die heute gültigen und akzeptierten Vorstellungen über eine Elementarmembran stammen aus dem "Flüssig-Mosaik-Modell" von Singer und Nicolson ⁽¹²⁾: Als Diffusionsbarriere dient ein bimolekularer, zumindest teilweise fluiden Film aus Strukturlipiden. Er ist stellenweise durchsetzt von Proteinteilchen, andere Proteine tauchen in ihn ein oder bedecken seine Oberfläche. Das nur oberflächlich anhaftende Protein kann leicht von der Membran abgelöst werden: periphere oder extrinse Membranproteine. Dagegen sind die tiefer in den Lipidfilm eingesenkten oder durch ihn quer hindurch reichenden Proteinteilchen durch hydrophobe Wechselwirkung mit den Membranlipiden verbunden und nur schwer von ihnen abtrennbar: integrale oder intrinse Membranproteine (Abb. 3). Sie sind es unter anderem, die als Permeasen aktiven Transport und katalysierte Permeation vermitteln.

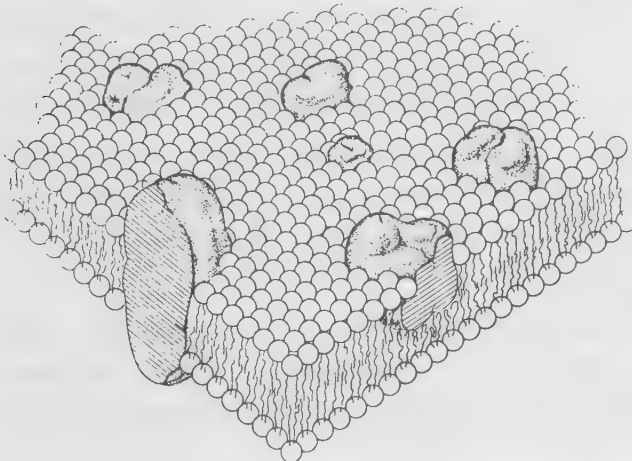


Abb. 3: Schema der Struktur der Zellmembran nach dem "Flüssig-Mosaik-Modell" ⁽¹²⁾.

Für ein Vorhandensein integraler Membranproteine sprechen auch die mit der Technik der Gefrierätzung erhaltenen Präparate. Bei dieser Methode werden biologische Proben oder Modellsysteme sehr schnell gefroren, gebrochen und durch Sublimation des Eises geätzt. Die Bruch- und Ätzflächen werden dann noch in gefrorenem Zustand unter Vakuum mit Schwermetall bedampft. Die gewonnenen Oberflächenabdrücke zeigen, daß der Bruch der Proben oft in der Ebene von Membranen erfolgt, d. h. Membranen werden beim Gefrierbruch zwischen den Methylen- und Methylengruppen der Fettsäuren der in einer Doppelschicht angeordneten Lipide gespalten, was zugleich einen Beweis für das Konzept der bimolekularen Struktur liefert. In solchen Gefrierätzpräparaten erscheinen die Flächenansichten von Membranen im Vergleich zum Grundplasma glatt, aber wie mit kleinen Partikeln unregelmäßig übersät.

Künstliche, proteinfreie Lipidfilme weisen solche Partikel nicht auf. Diese Tatsache zeigt daher, daß es sich bei ihnen um integrale Membranproteine handelt. Da der Lipidfilm - zumindest überwiegend - (zäh-) flüssig ist, können sich die Proteine in ihm verlagern. Gewöhnlich stehen sie untereinander nicht in Verbindung. Der flächige Aufbau der Membranen wird also im wesentlichen durch die Struktur lipide bedingt.

Allerdings kann dieses Schema, je nach Membran, erheblich variieren. Es gibt Membranen, bei denen die Lipide vorherrschen und die Proteine ganz zurücktreten. Solche

Membranen haben vor allem isolierende Funktion. Wichtigstes Beispiel dafür sind die Myelinscheiden markhaltiger Nerven.

In anderen Fällen tritt umgekehrt die Lipidkomponente zurück. In solchen durch Protein dominierten Membranen können sich Membranproteine direkt miteinander verbinden und regelmäßige Flächengitter ausbilden.

Membranen dieser Art finden sich in Chloroplasten (Thylakoide), aber z. B. auch - als lokale Membrandifferenzierung - in Plasmamembranen von Epithelzellen, sogenannten "gap junctions". Solche Proteinoligomere verbinden Zellen und Zellkompartimente miteinander und regeln den Durchtritt kleiner Moleküle durch Konformationsänderung ihrer Untereinheiten (13).

Proteine sind notwendigerweise asymmetrisch aufgebaut; wenn identische Moleküle nicht bilateral symmetrisch in einer Doppelschicht angeordnet sind, tragen sie zur Asymmetrie der Membran bei. Daß dies tatsächlich der Fall ist, geht aus Untersuchungen über die unterschiedliche Zugänglichkeit verschiedener reaktiver Gruppen der Proteine von beiden Seiten der Membran hervor. Aber nicht nur Proteine sind in der Membran asymmetrisch verteilt, sondern auch die Lipide (14, 15). Phosphatidylethanolamin und Phosphatidylserin befinden sich hauptsächlich in der zellinneren Membranhälfte, der Cytoplasmalamelle, während Phosphatidylcholin und Sphingomyelin in der äußeren Lamelle angereichert sind. Cholesterol kommt in der äußeren

Lämelle in höherer Konzentration vor, als in der inneren. Es ist also wahrscheinlich, daß eine solche Protein- und Lipidverteilungsasymmetrie für die meisten biologischen Membranen charakteristisch ist und im Doppelschichtmodell entsprechend berücksichtigt werden muß.

1.3. Membrandynamik und Membrantransport

Das Schema des Modells der Abb. 3 (S. 17) könnte den Eindruck der Statik hervorrufen, dergestalt, daß eine Zellmembran eine fixe Anordnung der Bauelemente, Lipide und Proteine, besitzt, die sich, wie bei Kristallen, in ihrer Struktur nicht ändert.

Das trifft aber nicht zu: Membranen zeigen, in Abhängigkeit von z. B. der Temperatur, vielmehr ein dynamisches Verhalten. Mit Elektronenspinresonanz, Kernresonanz oder optischen Techniken kann man für die Lipide Rotationsdiffusionsfrequenzen ⁽¹⁶⁾ von $10^7 - 10^8 \text{ s}^{-1}$ messen, entsprechend einer lateralen Diffusionsgeschwindigkeit von $10^{-7} - 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ sowohl für Phospholipid-Doppelschicht-Modelle wie für Biomembranen.

Bei Zimmertemperatur kann also ein einzelnes Lipidmolekül in einer Sekunde einige Mikrometer zurücklegen. Im Gegensatz zu dieser schnellen lateralen Diffusion liegt die transversale Platzwechselzeit - für den Übertritt eines Moleküls aus der einen Hälfte der Doppelschicht in

die andere - in der Größenordnung von Stunden (17).

Die Diffusionskoeffizienten können sich dabei, in Abhängigkeit von der Temperatur und damit dem Aggregatzustand der Lipidmatrix, um den Faktor 10^2 und mehr ändern (18). Lipide können sich also in der Membranebene relativ gut bewegen. Als Folge davon breiten sich an einem bestimmten Ort in die Zellmembran eingebaute Lipidmoleküle durch Diffusion über die gesamte Membran aus. Ähnliches gilt auch für Proteine und Fremdstoffen. Die Lipiddoppelschicht stellt also eine dynamische und vermutlich asymmetrische Struktur dar, die sich in ähnlicher Form an der Oberfläche aller Zellen und der meisten Zellorganellen findet.

Die erwähnten Experimente führten zu der Vorstellung, daß eine Membran, mindestens teilweise oder temporär, Charakteristika eines flüssigen Filmes besitzt, in dem sich die vorhandenen Proteine, je nach Adsorptionsart, mehr oder weniger frei bewegen können.

Diese These ist auch relevant für einen möglichen Transportmechanismus für Ionen durch biologische Membranen, wie er bei der Impulsleitung in Nerven auftritt (19):

Die Durchlässigkeit einer Lipiddoppelschicht ist für Ionen wie Natrium oder Kalium sehr klein. Damit solche Ionen die Membran überhaupt durchdringen können, müssen sie in der Membran hinreichend beweglich sein, was mit dem flüssigen Phasenzustand der Lipide gegeben ist. Primär muß die Membran, die an ihren beiden Oberflächen

mit den wässrigen Lösungen dieser Ionen in Kontakt steht, diese erst einmal aufnehmen.

Da aber die Fettsäureketten der Lipiddoppelschicht nur eine sehr kleine Polarisierbarkeit zeigen und außerdem das hydrophobe Membraninnere für Ionen eine, im Vergleich zu Wasser, thermodynamisch sehr ungünstige Umgebung darstellt, können praktisch keine Ionen in die Membran eindringen. Für Ionen stellt also eine reine Lipidphase eine sehr hohe Permeationsbarriere dar, deren Überwindung eine praktisch nicht aufzubringende Aktivierungsenergie verlangen würde.

Nun können Ionen aber tatsächlich durch Membranen hindurchtreten. Es müssen also Mechanismen wirksam sein, welche diese Energiebarriere sehr effektiv erniedrigen. Solche funktionellen Differenzierungen entstehen durch den Einbau einzelner Moleküle, die als Carrier fungieren, oder durch Aggregate von Molekülen, vermutlich meist Proteine, die Kanäle oder Poren durch den hydrophoben inneren Teil der Doppelschicht bilden. Vorübergehend bilden sich Poren auch durch die Einwirkung eines elektrischen Feldes auf Vesikel aus Phospholipiddoppelschichten (20). Ein an die Membran gebundenes Molekül ist ein Carrier, wenn es an der Grenzfläche Lösung/Membran das zu transportierende Substrat (Ion oder Neutalmolekül) bindet, als Komplex die Membran durchdiffundiert bis zur anderen Phasengrenze, dort dissoziiert und das Substrat in die Lösung der anderen Membranseite austreten läßt; ein näch-

ster Transportzyklus wird möglich, wenn der Carrier dann wieder in seine Ausgangsstellung zurückkehrt. Eine Ortsveränderung des gesamten Carriers durch Diffusion in der Membran wird überflüssig, wenn er seine Akzeptorstelle für das Substrat durch eine Drehung von der einen zur anderen Lösung verlagern kann. Der Carriertransport könnte auch bewerkstelligt werden durch ein als Ganzes in der Membran ruhendes integrales Protein (vgl. Abb. 3, S. 17), das durch eine Konformationsänderung (z. B. Rotation) den Transport bewirkt.

Die erwähnten Mechanismen sind passiver Art, d. h. die den Transport auslösende treibende Kraft ist ein Konzentrationsunterschied des Substrats in Ausgangs- und Zielösung beziehungsweise für Ionen noch zusätzlich ein Spannungsgradient. Eine besondere Form solcher spezifischer Transportsysteme sind die Ionenpumpen, die unter Ausnutzung zellulärer Energiequellen Ionen gegen ein elektrochemisches Potential transportieren; sie erlauben es den Zellen z. B. Kalium zu akkumulieren und Natrium zu eliminieren.

Neben der Natrium-Kalium-Pumpe kennt man noch Calcium- und Protonenpumpen. Die meisten Ionenpumpen sind elektro- gen und erzeugen einen elektrochemischen Gradienten, der zum Transport anderer Substanzen durch spezifische Kanäle und in Austauschprozessen dient. Die in solchen Gradienten gespeicherte Energie wird auch für andere Zwecke, z. B. die Signalübermittlung, benutzt.

Ionophore wie Valinomycin (21) sind heute bekannt; sie bestehen aus makrozyklischen Ringen mit hydrophoben und hydrophilen Resten, kommen in Mikroorganismen vor, wirken antibiotisch und zeigen eine ausgeprägte Ionenspezifität. Gramicidin, ein antibiotisch wirkendes Peptid aus *Bacillus brevis*, ist, im Zusammenhang mit dem elektrisch gesteuerten Natriumkanal der Nervenmembran, ein Beispiel für eine Membranpore (22).

Über diesen mechanistischen Details molekularer Abläufe sollte man aber eine dafür wichtige Grundvoraussetzung der Lipidmatrix einer Membran nicht vergessen - ihre Eigenschaft nämlich, in Abhängigkeit von einer Reihe diverser Variablen, sowohl in einer quasi festen Gelphase wie auch in einem flüssig-kristallinen Zustand existieren zu können, welcher letztere die oben beschriebenen Transportvorgänge erst ermöglicht.

2. Aggregatzustandsänderungen in Membranen und Lipiden

Organische amphiphile Verbindungen, die in Wasser schwer löslich sind und bei denen das hydrophobe Kohlenwasserstoffgerüst etwa den gleichen Querschnittsradius hat wie eine hydrophile Kopfgruppe, tendieren in wässrigem Milieu zur Ausbildung ausgedehnter bimolekularer Schichten. Die hydrophoben Enden der Molekülaggregate lagern sich zusammen und sind der wässrigen Phase entzogen, die hydrophilen Kopfgruppen sind in der wässrigen Phase gelöst und verhindern eine Trennung in zwei Phasen. Da Kopfgruppen und hydrophobes Gerüst ungefähr gleich groß sind, bilden sich Aggregate von kleiner Krümmung und daher großer Ausdehnung.

Lagern sich mehrere solcher hydratisierter Lipidschichten zusammen, so kommt es zur Ausbildung von Myelinstrukturen, deren Querschnitte im Elektronenmikroskop fingerabdrücken ähnlich sind. Diese Aggregate mit Myelinstruktur können als einfache Modelle für Neuron-Membranen angesehen werden.

Schlägt man durch Energiezufuhr, z. B. durch Ultraschallung, Aggregatblöcke aus diesen wasserlöslichen Myelinstrukturen heraus, so werden Lipiddoppelschichten großer Krümmung gebildet, die in Wasser dispers löslich sind und im Elektronenmikroskop wie isolierte biologische Zellen aussehen. Diese kugelförmigen oder ellipsoiden Kör-

per heißen Vesikel oder Liposomen.

Die einzelnen (hypothetischen) Stadien der Vesikelbildung sind in Abb. 4 zusammengefaßt.

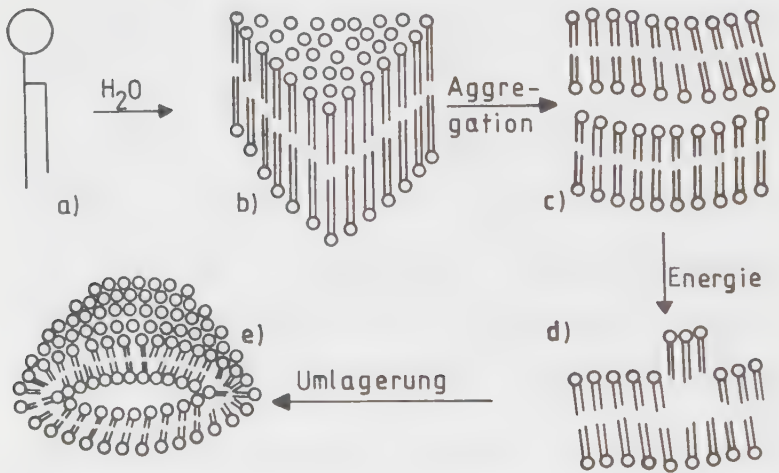


Abb. 4: Struktur und Umwandlung von bimolekularen Lipidmembranen in Wasser ⁽²³⁾. (a) Amphiphiles Monomer; (b) bimolekulare Lipidmembran (Ausschnitt); (c) Myelinstruktur (Ausschnitt); (d) partiell zerschlagene Myelinstruktur; (e) Querschnitt durch eine sphärische Vesikel

Neben ihrem gewöhnlichen kapillaren Schmelzpunkt zeigen Lipide folgende Besonderheit:

Hochmolekulare Aggregate wie in Abb. 4 erfahren bei einer bestimmten Temperatur, der Umwandlungstemperatur T_H , eine kooperative Phasenänderung (24 - 29), d. h. bei Temperaturen kleiner als T_H liegen die Acylketten der Fettsäuren gestreckt in der längsten möglichen, der all-trans-Anordnung vor und bilden ein zweidimensionales hexagonales Gitter, was dem vollständig geordneten oder kristallinen Zustand entspricht. Bei Temperaturen größer als T_H wird jede Kette durch mehrere gauche-Anordnungen verkürzt; dadurch expandiert das Gitter lateral und die gesamte Struktur ist weniger dicht gepackt; dies ist charakteristisch für den ungeordneten Zustand oder die "flüssige" Phase.

Nicht ganz zutreffend spricht man in diesem Zusammenhang auch vom Schmelzen der Fettsäureketten. Weil beide Phasen auseinander hervorgehen, existiert eine Umwandlungsbreite ΔT_H , in der beide Phasen koexistieren. In Abb. 5 (S. 28) gibt der Umwandlungsgrad α den Bruchteil der Moleküle an, der im kristallinen beziehungsweise flüssigen Zustand ist.

Für $\alpha = 0$ heißt dies, daß sich die Membran in der maximal möglichen Ordnung befindet, eine Phasenumwandlung hat noch nicht stattgefunden, die Membran liegt kristallin vor; das andere Extrem, $\alpha = 1$, besagt, daß die Phase jetzt vollständig fluid ist. Dazwischen liegt die

Phasenumwandlungstemperatur T_H , definiert als der Wendepunkt der Umwandlungskurve, für den $\alpha = 0.5$ gilt. Die Umwandlungsbreite ΔT_H ist gegeben durch die Temperaturen, bei denen der Umwandlungsgrad α von 0 und 1 abweicht.

In der Skizze sind durch Ovale die hydrophilen Lipidköpfe und die Fettsäureacylketten für $T < T_H$ als Gerade und für $T > T_H$ als gewellte Linien dargestellt. Man sieht, daß die Dicke der Lipiddoppelschicht nach der Phasenumwandlung kristallin $\rightarrow$ fluid ab- und der Abstand zwischen den einzelnen Molekülen zunimmt.

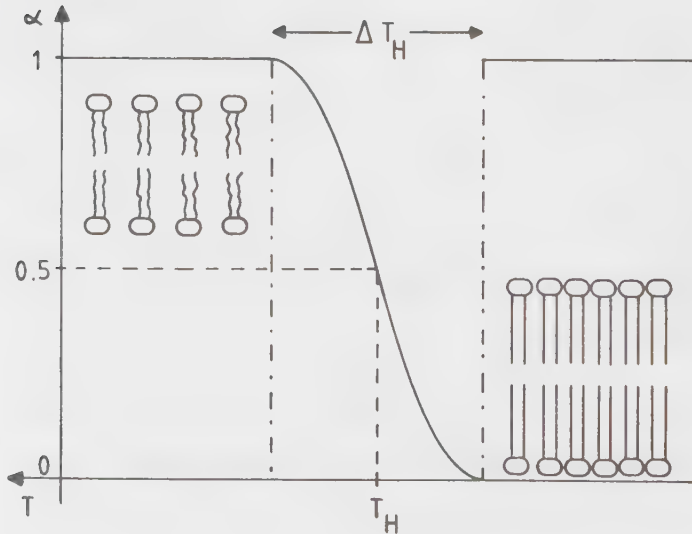


Abb. 5: Schema der Phasenumwandlung

2.1. Interne Faktoren der Lipidphasenumwandlung

Hochmolekulare Lipidstrukturen in Wasser können also in Abhängigkeit von der Temperatur oder anderer Variabler eine endotherme, reversible Phasenumwandlung durchlaufen, die charakteristisch ist für eine Aggregatzustandsänderung von kristallin nach flüssig-kristallin und umgekehrt. Dies ergaben erstmals kalorimetrische und Röntgenexperimente (24 - 26).

Die Kohlenwasserstoffketten des Inneren der Lipiddoppelschicht haben bei Temperaturen oberhalb der Phasenumwandlung wesentlich größere Translations- und Rotationsfreiheiten als unterhalb. Im allgemeinen liegen die Umwandlungstemperaturen der Lipidphasen in wässriger Dispersion weit unter dem gewöhnlichen Schmelzpunkt der entsprechenden Lipide in Substanz; der kapillare Schmelzpunkt von z. B. 1,2-Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC, mit 16 Kohlenstoffatomen in der Fettsäure) liegt bei ca. 230°C, während die Phasenumwandlung bei 41°C abläuft. Die Umwandlungstemperatur der Phasen ineinander wird bestimmt von der Länge der Acylketten, ihrem Sättigungsgrad, von Zahl und Lage der vorhandenen Doppelbindungen, von der Art der hydrophilen Kopfgruppen und vom umgebenden Medium.

Tabelle 4 zeigt die Phasenumwandlungstemperaturen T_H und -enthalpien ΔH_H einiger 1,2-Diacyl-phosphatidylcholins (PC) und -ethanolamine (PE), wobei n die Kohlen-

stoffzahl der auftretenden gesättigten Fettsäuren Laurin-, Myristin-, Palmitin- und Stearinsäure angibt (30,31,33).

Lipid	n	T_H ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_H (kcalmol $^{-1}$)
DLPC	12	-1.8	1.7
DMPC	14	23.6	5.0
DPPC	16	41.1	6.4
DSPC	18	54.2	7.9
DMPE	14	49.5	5.8
DPPE	16	63	8

Tab. 4: Temperaturen und Enthalpien der
Phasenumwandlung von Lipiden

Aus den Werten der Tabelle ergeben sich folgende allgemeine Aspekte:

- 1) Umwandlungstemperatur T_H und Umwandlungsenthalpie ΔH_H sind direkt proportional zur Länge der Fettsäurereste. Aus den Angaben für die Choline ist ersichtlich, daß die Differenzen für T_H und ΔH_H zwischen aufeinander folgenden Werten zunehmender Kettenlänge n aber nicht konstant sind, sondern immer kleiner werden für länger werdende Acylgruppen. Die Abhängigkeit ist also direkt proportional, aber nicht linear.

- 2) Phosphatidylethanolamine haben, verglichen mit den Phosphatidylcholinen entsprechender Kettenlänge, eine um ca. 20 bis 25⁰C höhere Phasenumwandlungstemperatur, während die Enthalpiewerte sich nicht substantiell unterscheiden. Eine Änderung der Struktur der polaren, hydrophilen Kopfgruppe wirkt sich aus auf die Ion-Ion-Wechselwirkung der Kopfgruppen untereinander, auf ihren Hydratisierungsgrad, sowie auf die Möglichkeit zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen. Alle genannten Faktoren beeinflussen die thermodynamischen Kenngrößen T_H und ΔH_H . Eine umfangreiche Variation der Struktur der Lipidkopfgruppen bestätigt, daß jeder Typ von Kopfgruppe sich charakteristisch auf die Phasenumwandlung auswirkt ⁽³²⁾.
- 3) Stellungsisomere 1,2-Diacylphosphatidylcholine zeigen unterschiedliche Parameter T_H und ΔH_H ihrer Phasenumwandlung ⁽³³⁾. Kombiniert man den Glycerylphosphatidylcholinrest mit den drei gesättigten Fettsäuren der Kohlenstoffzahl 14, 16 und 18 (vgl. Tab. 4, S. 30), so erhält man die sechs möglichen, gemischten und stellungsisomeren Lecithine. Die in den Abkürzungen der Tabelle 5 (S. 32) an erster Stelle genannte Fettsäure ist mit der Hydroxylgruppe am Kohlenstoff eins des Glycerinteils verestert, der Phosphatidylcholinrest steht am Kohlenstoff drei. MPPC steht also beispielsweise für 1-Myristoyl-2-palmitoyl-phosphatidylcholin. Zum Vergleich sollte

man die drei ungemischten, d. h. mit zwei gleichen Fettsäureresten gebildeten Phosphatidylcholine DMPC, DPPC und DSPC aus Tab. 4 (S. 30) heranziehen.

Lipid	n	T_{H1} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{H2} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_H (kcal mol $^{-1}$)
SMPC	18,14	29.37 ± 0.08	29.62 ± 0.07	5.20 ± 0.23
MSPC	14,18	38.63 ± 0.08	38.55 ± 0.07	6.93 ± 0.23
PMPC	16,14	27.28 ± 0.07	27.54 ± 0.07	5.16 ± 0.25
MPPC	14,16	35.08 ± 0.07	35.05 ± 0.07	6.92 ± 0.25
SPPC	18,16	43.87 ± 0.07		7.26 ± 0.63
PSPC	16,18	48.98 ± 0.07		8.33 ± 0.63

Tab. 5: Temperaturen T_H und Enthalpien ΔH_H der Phasenumwandlung von gemischtkettigen Lipiden (33).

(T_{H1} , T_{H2} : Erste, zweite Hauptumwandlungstemperatur).

Die Werte von T_H und ΔH_H aus Tab. 5 sind in mehrfacher Hinsicht bemerkenswert. Erstens sind die mit dieser hochempfindlichen differentiellen Mikrokalorimetrie erhältlichen Meßwerte offensichtlich sehr genau. Zweitens liegen die Umwandlungstemperaturen der drei gemischtkettigen Lipidpaare jeweils im Temperaturintervall der beiden nicht gemischten Lipide, aus denen sie kombiniert wurden.

Drittens zeigt sich beim Vergleich der beiden Stellungs-
isomeren je eines der drei Paare, daß der T_H -Wert jeweils
für dasjenige Isomer deutlich höher liegt, das die län-
gere Acylkette am Kohlenstoff 2 des Glycerinteils trägt.
Und viertens schließlich ermöglicht es diese hochauflö-
sende Technik sogar in einigen Fällen, für ein einzelnes
gemischtkettiges Isomer zwei nahe beieinander liegende
Werte T_{H1} und T_{H2} zu separieren, die offensichtlich den
beiden verschieden langen Acylresten im gleichen Molekül
zugeordnet werden können.

Man kann nun aber nicht der längeren Acylkette die hö-
here Übergangstemperatur T_H zuordnen, wie dies für die
einheitlich disubstituierten Choline gilt (z. B. T_H
(DPPC) $>$ T_H (DMPC)). Es muß vielmehr die Inäquivalenz
der beiden Fettsäureketten in Betracht gezogen werden,
die bereits auch bei einheitlich diacylsubstituierten
Cholinen auftritt: Röntgenstrukturuntersuchungen (34)
und ^{13}C -Relaxationsmessungen (35) zeigen, daß Dimyristoyl-
phosphatidylcholin in einer Konformation vorliegt, wie
sie Abb. 6a (S.34) skizziert (der Glycerinteil ist durch
ein Rechteck hervorgehoben). Hierbei ist der Glycerinteil
parallel zur Normalen (Senkrechten) auf der Lipidschicht
angeordnet, die mit C_1 veresterte Acylkette erstreckt
sich direkt in die Doppelschicht, während die an C_2 sit-
zende Kette senkrecht zur Doppelschichtnormalen anfängt
und erst ab ihrem zweiten Kohlenstoffatom B^* (gezählt
ab dem Carbonyl -C) in die Doppelschicht eintaucht.

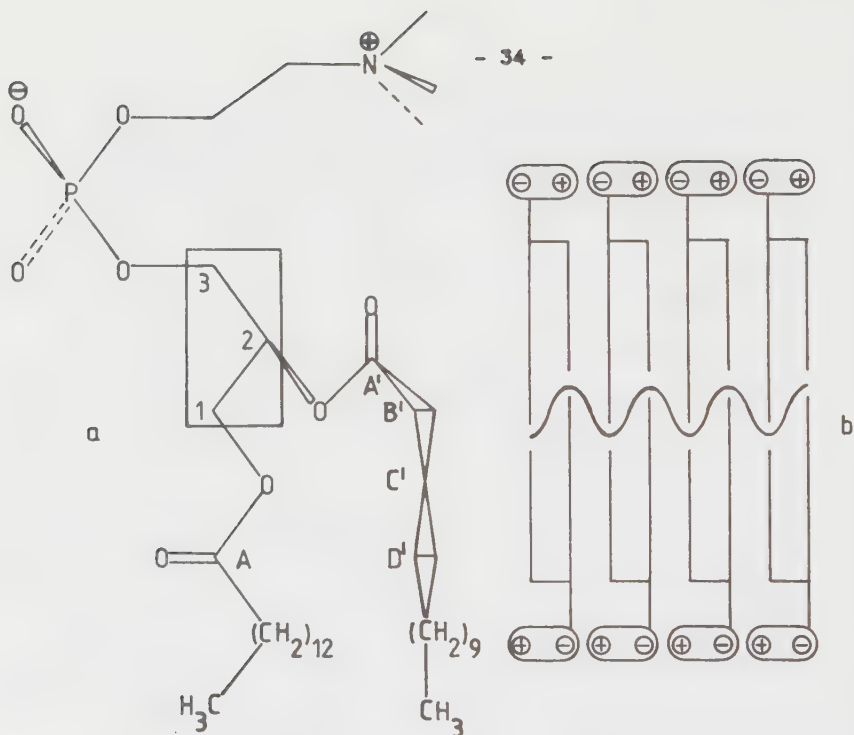


Abb. 6: (a) Konformation von DMPC und
(b) daraus resultierendes van-der-Waals-Potential

Durch die Konformation der Abb. 6a, die auch in wässriger Dispersion vorliegen soll, kommt das C-Atom D' der an C₂ des Glycerinteils sitzenden Fettsäure im hydrophoben Inneren der Doppelschicht auf die Höhe des C-Atoms A der am Glycerin-C₁ hängenden Acylkette zu liegen, d. h. die Kette am C₁ des Glycerinteils hat eine um die Länge dreier C-C-Bindungen größere effektive Reichweite als die Kette an C₂ des Glycerins.

Das hat Konsequenzen beim Aufbau der Doppelschicht: sind die beiden Hälften der Doppelschicht so angeordnet

wie in Abb. 6b, d. h., regelmäßig so, daß eine "lange" Acylkette der oberen Hälfte jeweils auf eine "kurze" Kette der unteren Hälfte trifft, dann ergibt sich genau in der Mitte der hydrophoben Schicht ein etwa sinusförmiges van-der-Waals-Wechselwirkungspotential mit einer Amplitude, die der Länge eines Propylrestes entspricht. Diese Kopplung der beiden Doppelschichthälften durch gegenseitige Verzahnung der Acylketten in der Membranmitte scheint der Ort der schwächsten Wechselwirkung im gesamten Lipidaggregat zu sein, denn genau in dieser Ebene wird die Membran beim Gefrierbruch gespalten.

Neben dieser regelmäßigen Anordnung der Ketten wäre im Prinzip noch eine andere denkbar, nämlich so, daß eine "kurze" Kette der oberen Hälfte auf eine ebenfalls "kurze" Kette der unteren Hälfte zielt und dann entsprechend zwei "lange" aufeinandertreffen. Bei dieser statistischen Anordnung müßten je zwei "lange" aufeinandertreffende Ketten z. B. durch Bildung einer gauche-Konformation und damit Abknickung der Kette einander ausweichen, wodurch auch der freie Raum zwischen den links und rechts benachbarten zwei "kurzen" Kettenpaaren besetzt wäre.

Auch mit diesem Bild ergibt sich in der Membranmitte ein hydrophobes, gewelltes Wechselwirkungspotential, dessen Amplitude jetzt aber nicht mehr genau definiert ist, da man den Ort der gauche-Anordnung nicht kennt. Qualitativ aber liefern beide Vorstellungen die gleiche Aussage, nämlich, daß die Art der hydrophoben Wechselwirkung

in der Mitte der Lipiddoppelschicht infolge der gegenseitigen Verzahnung der Acylketten aus oberer und unterer Hälfte eine andere sein sollte als in den übrigen Bereichen ober- und unterhalb der Membranmitte, wo keine solche Verzahnung möglich ist, sondern nur eine laterale hydrophobe Wechselwirkung benachbarter Acylketten stattfindet.

Beim Übergang von den mit identischen Fettsäuren disubstituierten Cholin zu gemischtkettigen unterschiedlicher Länge vergrößert sich dieser Verzahnungseffekt noch um die Differenz der Länge der beiden Acylketten.

Für 1-Stearoyl-2-myristoyl-phosphatidylcholin (SMPC, s. Tab. 5, S. 32) ergibt sich also ein effektiver Kettenlängenunterschied von sieben CH_2 -Einheiten, d. h., die Amplitude der gegenseitigen Verzahnungstiefe hat sich, verglichen mit 1,2-Dimyristoyllecithin (DMPC), für welches nur ein einziger Wert von 23.6°C für die Phasenumwandlungstemperatur gefunden wird (Tab. 4, S. 30), von drei (für DMPC) auf sieben CH_2 -Gruppen mehr als verdoppelt.

Diese erhebliche Verbreiterung der van-der-Waals-Wechselwirkung im Bereich der gegenseitigen Kopplung der beiden Doppelschichthälften in der Membranmitte ist wahrscheinlich der Grund für die Existenz von zwei T_H -Werten bei 29.37 und 29.62°C für SMPC.

Ein doppelter Hauptphasenübergang tritt immer dann auf, wenn bei den gemischtkettigen Cholin der Tab. 5 (S. 32) die Differenz in der Eindringtiefe groß genug ist, also

nur, wenn ein Myristoyl-Rest am C_2 -Atom des Glycerin-teils sitzt. Beim Dipalmitoylphosphatidylcholin ist die Kette am C_1 vom Glycerin effektiv nur um 1,5 C-C-Bindungen länger als die an C_2 ⁽³⁶⁾, die Hälfte des Wertes von Dimyristoylphosphatidylcholin. Damit ergibt sich für das Isomerenpaar SPPC und PSPC eine Verzahnungstiefe von nur 3,5 CH_2 -Einheiten (vgl. drei für DMPC), was offensichtlich zu wenig ist, um den Hauptphasenübergang in einen Doppelpeak aufzulösen.

4) Schließlich bewirkt die Einführung einer Doppelbindung in die Acylketten von gesättigten Lipiden auch eine Änderung der Phasenumwandlungsparameter im Vergleich zu diesen. Eine cis-Doppelbindung hat dabei einen größeren Effekt als eine trans-Doppelbindung. Läßt man *E. coli*-Mutanten in Gegenwart der entsprechenden ungesättigten Fettsäure wachsen, isoliert die Phospholipide und dispergiert sie in einer Pufferlösung, so ergeben sich für Phasenumwandlungstemperatur T_H und -umwandlungsbreite ΔT_H die in Tab. 6 aufgeführten Werte ⁽³⁷⁾.

Fettsäure	E-9-16:1	E-9-18:1	Z-9-18:1
T_H ($^{\circ}C$)	27	38	13
ΔT_H ($^{\circ}C$)	7	4	12

Tab. 6: Phasenumwandlungsparameter einfach ungesättigter Phospholipide aus *E. coli*

(Legende: E-9-16:1 = E-9-Hexadecensäurerest)

Ein Vergleich mit den reinen Distearoyl- beziehungsweise Dipalmitoylphosphatidylcholinen (Tab. 4, S. 30) zeigt, daß eine trans-Doppelbindung ungefähr in der Mitte des Fettsäuremoleküls die Umwandlungstemperatur gegenüber dem gesättigten Analogon um ca. 15°C absenkt, eine vergleichbare cis-Doppelbindung aber eine viel dramatischere Verschiebung um ungefähr 40°C zu tieferer Temperatur auslöst. Außerdem ist die Umwandlungsbreite mit 12°C bei der Z-9-Octadecensäure sehr groß. Diese Fakten lassen sich mit der Molekelstruktur interpretieren:

Eine trans-Doppelbindung paßt in ihrer Konformation in einen gesättigten Acylrest in der all-trans-Anordnung sehr viel besser als eine cis-Doppelbindung mit ihrer aufgehobenen freien Drehbarkeit um die C=C-Achse und dem fixiert eingebauten "Knick" in der Kohlenstoffkette. Man kann sich den unterschiedlichen Einfluß auch von der Dynamik der Bewegung her plausibel machen:

Eine um ihre Längsachse rotierende Acylkette mit Z-Doppelbindung beansprucht deutlich mehr Platz als eine Kette mit E-Doppelbindung (Abb. 7) und vermindert daher die laterale hydrophobe Wechselwirkung in der Membran stärker, d. h. Z-Substitution in den Acylketten zeigt einen größeren fluidifizierenden Effekt als E-Substitution. Mehrfach cis-ungesättigte Fettsäurereste senken die Umwandlungstemperatur noch weiter ab.

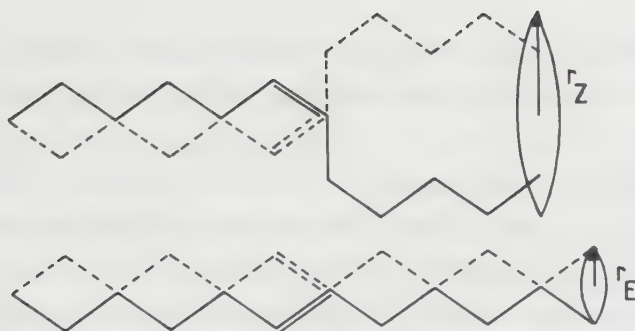


Abb. 7: Platzbedarf rotierender Z- und E-ungesättigter Fettsäurereste in Lipiden ($r_Z > r_E$)

Die Werte der Tabelle 6 (S. 37) sind nicht sehr genau reproduzierbar. Sie differieren etwas mit der verwendeten Meßmethode, hängen ab von der Herkunft der vermessenen Lipiddispersionen (je nachdem, ob sie aus ganzen Zellen, Membranen oder Phospholipiden von *E.coli* stammen), sowie vom Medium, in dem die Messung ausgeführt wurde; vor allem die Phasenumwandlungsbreite ΔT_H erweist sich als pH-abhängig.

Auch die Lage der Doppelbindung in den Fettsäureketten eines Lipids beeinflußt sein Phasenumwandlungsverhalten. Für *cis*-1,2-Dioctadecenoyl-phosphatidylcholin findet man ein ausgeprägtes Minimum sowohl für Phasenumwandlungstemperatur wie -enthalpie, wenn die Doppelbindung in 9,10- oder 11,12-Position steht ⁽³⁸⁾, was dem disruptiven Einfluß der *cis*-Doppelbindung zuzuschreiben ist.

Der hauptsächliche Effekt der cis-Doppelbindung besteht also in einer Störung der kooperativen hydrophoben Wechselwirkung, die offensichtlich dann am größten ist, wenn der Fettsäurerest durch die Doppelbindung ungefähr in der Mitte in zwei etwa gleich lange Abschnitte geteilt wird.

Einen weiteren Hinweis auf die Strukturempfindlichkeit des Phasenverhaltens von Lipiden liefert die Elektronenspinresonanz. Hierbei wird ein stabiles Radikal in das Lipid eingebaut, welches als "Reportermolekül" den Zustand seiner Umgebung z. B. in Abhängigkeit von der Temperatur referiert. Markiert man das gemischtkettige 1-Palmitoyl-2-stearoyl-phosphatidylcholin (PSPC, vgl. Tab. 5, S. 32) an verschiedenen Stellen der Stearoylkette, so ergeben sich unterschiedliche Phasenumwandlungstemperaturen und -enthalpien ⁽³⁹⁾: Sitzt das Spinlabel am C₅ der Stearoylkette (gezählt ab Carbonylkohlenstoffatom), findet man einen Phasenübergang kristallin $\rightleftharpoons$ flüssig bei 30.3 - 30.7°C, wohingegen Markierung an C₁₆ einen Wert von 32 - 34°C liefert. Spinmarkierung an C₁₂ zeigt im Bereich von 5 bis 35°C dagegen keinen definierten Phasenwechsel, während der Ersatz des Spinlabels an C₁₆ gegen eine Methylgruppe wieder einen T_H-Wert von 34.6°C ergibt.

Allgemein läßt sich also feststellen, daß Lipide, deren Fettsäuren ungefähr in der Mitte mit einem Spinlabel (oder einer Doppelbindung) versehen sind, eine niedrigere Phasenübergangstemperatur aufweisen als Lipide mit

Markierung (oder Doppelbindung) entweder in der Nähe des polaren Anfangs oder des terminalen Methylenendes des Fettsäurerestes.

Durch Kombination von Lipiden mit unterschiedlichen polaren Kopfgruppen, verschieden langen Fettsäureketten und differentem Substitutions- und Sättigungsgrad sollten sich also theoretisch Modellsubstanzen mit Phasenumwandlungsparametern bei beliebigen Werten erstellen lassen. Die Phasenumwandlung beeinflusst, wie bereits erwähnt, sowohl die Beweglichkeit der Acylketten über die hydrophobe Wechselwirkung wie auch die polare Ion-Ion-Wechselwirkung der hydrophilen Kopfgruppen der Lipide. Daher ist vorstellbar, daß die komplizierte Lipidzusammensetzung biologischer Membranen, die zusätzlich noch Proteine enthalten, den Zweck hat, der Membran die für ihre spezielle Funktion nötige Festigkeit beziehungsweise Fluidität zu verleihen. Durch geeignete Lipidkombinationen lassen sich so labile Membranen mit Übergangstemperaturen konstruieren, deren Funktion durch geringfügige Einflüsse von außen steuerbar sein sollte. Um die biologische Bedeutung derartiger Phasenumwandlungen würdigen zu können, müssen, unter anderem, die Geschwindigkeit der Umwandlung und ihre Wirkung auf z. B. die Permeabilität von Lipidmembranen oder auf Transportmechanismen qualitativ und quantitativ erklärbar werden, ferner sind die verschiedenen Parameter zu eruieren, welche die Phasenumwandlung initiieren oder beeinflussen können.

2.2. Externe Faktoren der Phasenumwandlung

Für die Lipide der meisten Membranen von Organismen hat man postuliert, daß sie temporär oder zum Teil fluid sein müssen bei den für die Aufrechterhaltung von Lebensprozessen erforderlichen Temperaturen (27).

Mit Röntgenbeugungsmethoden wurde bei mikrosomalen Membranen pflanzlichen Ursprungs eine Zunahme der Lipidphasenumwandlungstemperatur mit zunehmendem Alter gefunden (40), was man auf eine Vergrößerung des relativen Anteils an Sterolestern bei der Lipidzusammensetzung beziehungsweise auf eine Aktivitätsabnahme der Cholinesterase mit fortschreitendem Alter zurückführt.

Man weiß auch, daß das Myelin der Nerven viel Sphingolipide mit langkettigen gesättigten Fettsäuren und Cholesterol enthält (vgl. Abb. 1, S. 8).

Beide genannten Komponenten verschieben die Phasenumwandlung künstlicher Lipiddoppelschichten zu höherer Temperatur, stabilisieren also eine natürliche Membran durch Vergrößerung der kristallinen Phase.

Für Distearoylphosphatidylglycerin (DSPG) im Gemisch mit Myelinprotein des zentralen Nervensystems wurde, in Abhängigkeit vom pH-Wert, auch eine um 2°C höhere Phasenübergangstemperatur als die des reinen, nicht mit Protein komplexierten Lipids gefunden, während sich für kürzerkettige Phosphatidylglycerine mehrere Phasenzustände, auch metastabile, unterhalb der Umwandlungstemperatur

ergeben, was man einer unterschiedlichen Eindringungstiefe des Proteins in die Kohlenwasserstoffregion der Lipiddoppelschicht relativ zur Länge der vorhandenen Fettsäuren zuschreibt (41). Daraus kann man schließen, daß sich Myelinmembranen bei physiologischer Temperatur in einem kristallinen oder zumindest kristallin-flüssigen Zustand befinden sollten.

Kürzlich (41b) wurde röntgenographisch gezeigt, daß sich die Phasenumwandlungstemperatur T_H von menschlichem Myelin im Laufe des Lebens drastisch ändert:

Während der Reifungsperiode bis zum Alter von ca. 17 Jahren zeigt sich für T_H ein Anstieg von 13°C bis 65°C , entsprechend einer Zunahme der "Stabilität" der Myelinlipide. Bis zum Alter von ca. 50 Jahren bleibt der T_H -Wert konstant bei 65°C , um mit weiter zunehmendem Alter wieder abzunehmen. Diese T_H -Abnahme im Alter wird dem vermehrten Auftreten von Dialdehyden und konjugierten Dienem zugeschrieben, die beide Abbauprodukte der (radikalischen) Oxidation der Fettsäuren der Lipide darstellen.

Daß die anfangs erwähnte Forderung experimentell bestätigt werden konnte, zeigen Beobachtungen an Membranen von *E.coli* (29) und Gramicidin A beziehungsweise Cytochromoxidase in DMPC-Doppelschichten (42):

Nur etwa 80% der vorhandenen Lipide befinden sich in einer von Proteinen nicht gestörten Doppelschicht; die restlichen 20% sind in Ringen um die in der Lipidmatrix be-

findlichen Proteine angeordnet. Dabei kann man lediglich einem einzigen Protein "benachbarte" Lipidmoleküle von solchen unterscheiden, die zwischen zwei oder mehreren Proteinen "gefangen" sind:

Die "benachbarten" Lipide sind durch Wechselwirkung mit dem Protein in ihrer Lage fixiert, können daher nicht an der Phasenumwandlung teilnehmen und zeigen, verglichen mit Lipidmolekülen aus reinen Lipidbezirken, eine erhöhte Ordnung im Bereich der Kohlenwasserstoffketten, während durch mehrere Proteine "gefangene" Lipide im Gegensatz dazu eine niedrigere Ordnung als reine Lipide aufweisen. Dieser gegenläufige Effekt ist eine Konsequenz der unterschiedlichen Wechselwirkung im Bereich der polaren Kopfgruppen von freien, "benachbarten" und "gefangenen" Lipidmolekülen. Dieses Bild der Lipid-Protein-Wechselwirkung wurde bestätigt an Vesikeln des Stomatitis-Virus, dessen Membran Phospholipide, ein spezielles Protein und Cholesterol enthält (43):

Für die vollständige Virusmembran ist die Gitter-Spin-Relaxationszeit der ^{31}P -Kernresonanz deutlich größer als für wässrige Dispersionen des Phospholipidextraktes aus dem Virus. Das zeigt, daß die Phospholipidköpfe in ihrer Beweglichkeit durch etwas behindert werden, was im vollständigen Virus, nicht mehr aber in seinem Phospholipidextrakt vorhanden ist. Entfernt man, durch Behandlung mit Trypsin, das Protein aus der Virusmembran - was den Virus intakt läßt - so verschwindet auch die in der

kompletten Membran beobachtete Behinderung der Beweglichkeit. Diese muß also ihre Ursache in der Lipid-Protein-Wechselwirkung haben.

Genauer charakterisiert werden konnte die Wechselwirkung für Dimyristoylphosphatidylcholin (DMPC) und das menschliche "high-density lipoprotein" Apolipoprotein A-II, die spontan, je nach Temperatur unterschiedliche Assoziate mit definierter Zusammensetzung und charakteristischen Eigenschaften bilden ⁽⁴⁴⁾: Bei 20°C, unterhalb der Phasenumwandlungstemperatur, ergibt sich ein Komplex mit einem molaren Lipid : Protein-Verhältnis von 75 : 1; dieser Komplex entsteht auch genau bei der Lipidphasen-Übergangstemperatur T_H von 24°C, neben einem weiteren der Zusammensetzung 240 : 1. Bei 30°C ($> T_H$) schließlich findet man, daß sich 45 Lipidmoleküle mit einem Protein assoziieren. Diese Ergebnisse demonstrieren, daß die Komplexbildung von Apolipoprotein mit Phospholipiden die von der Temperatur abhängigen strukturellen Variationen sowohl im Lipid wie im Protein widerspiegelt.

Die Funktionen von Membranen sowie die Biogenese sind an den fluiden Phasenzustand gebunden; diese Feststellung kann man aus der Tatsache ableiten, daß eine Abkühlung von Membranen aus E.coli unter die Temperatur ihres Phasenüberganges zu einer lateralen Separation der Lipid- von der Proteinphase führt, was seine Ursache in der Aggregation der in der Membran vorhandenen Proteine hat ⁽²⁹⁾. Bei Temperaturen unterhalb des Phasenüberganges kann E.coli

also nicht mehr wachsen (45). Daraus kann man den Schluß ziehen, daß in *E. coli* und den Membranen vieler anderer Zellen bei normaler Wachstumstemperatur die vorhandenen Z-ungesättigten Acylketten der Lipide die Membranen in der fluiden, ungeordneten Phase halten. In gram-positiven Bakterien wie *Bacillus subtilis* sind keine ungesättigten Fettsäuren vorhanden, dafür aber viele Verzweigungen in den Lipidkohlenwasserstoffketten (46). Methylseitenketten setzen, wie Z-Doppelbindungen, die Phasenumwandlungstemperatur im Vergleich zu unverzweigten Fettsäuren herab, weil sie bei der Rotation um die Längsachse der Fettsäure eine größere Querschnittsfläche beanspruchen und damit die hydrophobe Wechselwirkung vermindern. Durch die kovalente Bindung der Acylketten an die polaren Kopfgruppen bewegen sich auch diese mit einer vergrößerten Amplitude um ihre Gleichgewichtslage, was eine Schwächung der hydrophilen Dipol-Dipol-Wechselwirkung bedeutet. Ein analoger Effekt ergibt sich für cyclopropan-substituierte Fettsäuren, während in die Lipidmatrix inkorporiertes Cholesterol die Beweglichkeit der Acylketten in Lipiddoppelschichten von Membranen vermindert.

Die Phasenumwandlungsparameter Temperatur T_H , Umwandlungsbreite ΔT_H und -enthalpie ΔH_H hängen nicht nur ab von Struktur und Substitution der Fettsäureketten und polaren Kopfgruppen und deren Hydratation, sondern auch von der Einlagerung von Proteinen, anderer Lipide oder sonstigen organischen Fremdmolekülen (47 - 51).

Ferner beeinflusst das die hydrophilen und polaren Oberflächen der Membran umgebende wässrige Medium durch Art und Konzentration der vorhandenen Ionen das Phasenverhalten der Lipiddoppelschicht (52). Wie schon erwähnt, gehen bei der Temperatur T_H der Phasenumwandlung folgende Änderungen in einer reinen Lipidmembran vor sich:

- a) Beim Übergang der kristallinen in die fluide Phase tritt eine schnelle laterale Diffusion der Lipidmoleküle auf (53).
- b) Es bilden sich in der all-trans-Anordnung der Fettsäureketten der kristallinen Phase durch Rotation gauche-Konformationen, welche die effektive Kettenlänge und damit die Dicke der Membran verkleinern;
- c) dadurch vergrößert sich die effektive polare Oberfläche der Doppelschicht erheblich (24). Für Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC, $T_H = 41^\circ\text{C}$) nimmt die durchschnittliche Fläche pro Molekül von $48 \text{ \AA}^2$ bei $T < T_H$ auf 60 bis $70 \text{ \AA}^2$ bei $T > T_H$ zu.

Organismen benötigen im allgemeinen zur Aufrechterhaltung ihrer Lebensvorgänge eine konstante Temperatur. Wenn also Phasenumwandlungen, z.B. in Membranen, in vivo tatsächlich ablaufen sollen, müssen sie von anderen Variablen als der Temperatur ausgelöst werden können.

Für hochmolekulare, oft geladene oder zwitterionische Systeme wie bimolekulare Lipidschichten könnten das Konzentrationsänderungen der Ionen oder pH-Änderungen in dem die Membran umgebenden Medium sein, weil sich wegen

der Auflockerung der Doppelschicht bei der Phasenumwandlung (Punkt c) die Ionendichte pro Fläche verkleinert. Die freie elektrostatische Energie stellt also eine Variable dar, die sich bei konstanter Temperatur und konstantem Druck ändert. Man sollte daher von allen Parametern, die die elektrostatische Energie ändern, erwarten, daß sie auch die Umwandlungstemperaturen der Lipidphasen beeinflussen. In einem begrenzten Temperaturintervall ist es also möglich, durch Variation solcher Parameter wie der freien elektrostatischen Energie einen Phasenübergang isotherm zu initiieren. Das Bild der ladungsinduzierten Phasenumwandlung kann qualitativ verständlich gemacht werden am Beispiel der 1,2-Diacylglyceryl-3-phosphorsäure, die zwei acide Protonen enthält. Die Umwandlungstemperatur T_H für diese Verbindung ist am höchsten für das undissoziierte Molekül; sie liegt niedriger, wenn ein acides Proton abdissoziiert ist und das Molekül eine negative Ladung trägt, und noch tiefer, wenn zwei negative Ladungen vorhanden sind. Die Phasenübergangstemperatur ist also eine Funktion des pH-Wertes (52). Da im fluiden Zustand der gleichen Anzahl von Ladungen eine größere Oberfläche zur Verfügung steht als im kristallinen, die Ladungsdichte also abnimmt, begünstigt eine Vergrößerung der Anzahl der Ladungsträger die fluide Phase, senkt also T_H ab, weil in ihr, wegen der vergrößerten polaren Oberfläche, die Abstoßung der gleichnamigen Ladungen geringer ist als im kristallinen Zustand.

Stellt man jedoch bei konstanter Temperatur einen konstanten pH-Wert ein, etwa so, daß neben der einfach auch die zweifach negativ geladene Form der 1,2-Diacylglycerylphosphorsäure vorliegt, und gibt jetzt positiv geladene Metallionen M^{2+} zu, so setzen diese die effektive negative Oberflächenladung durch Adsorption an die negativ geladenen Sauerstoffatome der Phosphatgruppe herab und es resultiert eine Erhöhung der Umwandlungstemperatur, was durch Zugabe von Ethylendiamintetraessigsäure wieder rückgängig gemacht werden kann, welche die Metallionen durch Bildung eines stabilen Komplexes binden kann.

Auch neutrale Lipide wie 1,2-Dipalmitoyl-phosphatidylcholin (DPPC, Abb. 1a, S. 8) erfahren durch zugesetzte Metallionen eine Änderung ihres Phasenverhaltens. Die Ionen wechselwirken mit der polaren Cholin-Kopfgruppe und ändern ihre Struktur, beeinflussen aber nicht den Glycerinteil oder die hydrophobe Kohlenwasserstoffregion des Lipids (54). Die Stärke dieser Wechselwirkung wächst mit der Ladung des Metallions, wobei sich aber Unterschiede zeigen für verschiedene Ionen gleicher Ladung, z. B. nimmt die Bindungsstärke zweiwertiger Ionen wie folgt zu (55): $Ba^{2+} < Mg^{2+} \simeq Co^{2+} < Ca^{2+} \simeq Cd^{2+} \simeq Mn^{2+}$.

Dreiwertige Metalle führen, wie zweiwertige, zu einer Erhöhung der Phasenübergangstemperatur (54, 56), während einwertige im Gegensatz dazu zu einer Erniedrigung Anlaß geben, wie an Zoosporen von *Blastocladiella emersonii* gezeigt wurde (57): Durch Zusatz von Calciumionen wird

deren Umwandlungstemperatur T_H um ca. 10°C erhöht, und zwar sowohl in der Lipiddispersion wie auch in der präparierten Plasmamembran. Dieser Effekt wird durch Kaliumionen wieder rückgängig gemacht, aber nur bei intakten, ganzen Zoosporen in vivo, nicht hingegen bei der isolierten Membran, was ein Hinweis darauf ist, daß die Kaliumionen die direkt auf die Membran wirkenden Calciumionen nicht einfach ersetzen, sondern einen indirekten Einfluß ausüben. Erst wenn in der Membranpräparation auch Adenosintriphosphat (ATP) vorhanden ist, wird die T_H -Anhebung durch Ca^{2+} von den zugegebenen Kaliumionen wieder egalisiert. Man weiß, daß Kaliumionen das Membranpotential sowohl in intakten Zoosporen wie in mit ATP versehenen Zoosporenmembranen depolarisieren können. Damit ist die durch K^+ -Zusatz hervorgerufene Umkehrung des Ca^{2+} -Effektes und die damit gekoppelte Änderung der Lipid-Lipid-Wechselwirkung und ihr Einfluß auf die Phasenübergangstemperatur eine Folge der durch die Kaliumionen induzierten Depolarisation des Membranpotentials.

Qualitativ kann also zusammengefaßt werden: Die Ionenzusammensetzung des umgebenden wässrigen Mediums wirkt sich aus auf die Struktur und den Phasenzustand der Lipiddoppelschicht. Die Umwandlung der kristallinen in die fluide Phase wird bestimmt vom pH-Wert und der An- beziehungsweise Abwesenheit und Konzentration von ein- oder mehrwertigen Metallkationen, wobei einwertige den "flüssigen" (T_H nimmt ab) und zwei- oder dreiwertige den "fe-

sten" Zustand begünstigen (T_H nimmt zu). Solche elektrischen Effekte sind wichtig im Hinblick auf Struktur und damit Funktion von biologischen Membranen.

Der Vergrößerung des Abstandes der polaren Köpfe beim Übergang von der kristallinen in die fluide Phase und damit der Zunahme der Lipidoberfläche, reflektierend eine größere Beweglichkeit bei höherer Temperatur, kann durch Applikation von Druck entgegengewirkt werden, d. h. durch Druckänderung ist es möglich, eine Phasenumwandlung isotherm herbeizuführen. Für Dipalmitoyllecithin (DPPC) z. B., dessen Phasen bei Normaldruck bei 41°C ineinander übergehen, liegt bei 1 kbar der Übergang bei ca. $17 - 30^{\circ}\text{C}$ höherer Temperatur (58).

Diese Stabilisierung der Membran wurde auch für einen Lipid-Peptid-Komplex untersucht (59). Antagonistisch dazu, also die Phasenumwandlungstemperatur erniedrigend, wirkt die Inkorporierung von Inhalationsanästhetika (11,60-62). Einer Membran zugesetzte Anästhetika vermindern die Kooperativität der Lipid-Lipid-Wechselwirkung, weil sie die durchschnittliche Größe der Lipidcluster sowohl in der festen Gelphase wie auch im fluiden Zustand unter eine kritische Größe verringern und dadurch die normale Funktion der neuronalen Membran stören. Diese Beeinträchtigung der Kooperativität wirkt sich auch auf die Wechselwirkung Lipid-Protein aus, was für die Modellbetrachtung des Ionenstromes durch erregbare Membranen (63, 64) wichtig ist.

Die Verkleinerung der Lipidcluster durch Anästhetika kann sich ferner in einer geänderten Kinetik der Penetration von Molekülen in die Membran manifestieren. Weil Anästhetika den Grad der kooperativen Wechselwirkung zwischen Lipiden herabsetzen, werden die Clusterbezirke größtmäßig kleiner und daher zahlreicher im Umwandlungsgebiet. Wenn der passive Transport von Ionen und kleinen Molekülen gefördert wird durch eine Zunahme der Grenzflächen zwischen den Clustern, dann sollten der Membran zugefügte Anästhetika diesen Transport beschleunigen. Es wurde auch gefunden, daß die Inkorporierung des Fluoreszenzfarbstoffes 8-Anilino-1-naphthalinsulfonat (ANS) in Vesikel aus Dimyristoylphosphatidylcholin (DMPC) maximal ist bei der Temperatur des Phasenüberganges, und die Geschwindigkeitskonstante für den Farbstoffeinbau durch die Gegenwart von Anästhetika erhöht wird (62).

Auch über Cholesterol (Abb. 1, S. 8) und seine Derivate in natürlichen und künstlichen Membranen existiert eine umfangreiche Literatur (65 - 71). Die Kohlenwasserstoffringe des Steroids liegen parallel zu den Fettsäureketten der Lipide im hydrophoben Innern der Lipiddoppelschicht, während die polare Hydroxylgruppe durch Wasserstoffbrückenbindung zu den Sauerstoffatomen der Lipidester-carbonylgruppen nahe der hydrophilen Membranoberfläche verankert ist. Der Einbau der voluminösen Ringe des Cholesterols zwischen die Lipidacylketten vergrößert die durchschnittliche Entfernung der Kopfgruppen voneinander und schwächt

so die elektrostatische Wechselwirkung benachbarter Lipidmoleküle, wodurch sich eine vermehrte Hydratation ergibt im Vergleich zum Cholesterolfreien Lipidaggregat.

Cholesterolzusatz führt zur "Verfestigung" der Membran im hydrophoben Kohlenwasserstoffbereich (vgl. S. 237 f).

Ein noch verbleibender wichtiger Aspekt betrifft die Struktur der polaren hydrophilen Kopfgruppen in Phospholipiden, ihre Konformation in Bezug zum hydrophoben Teil des Moleküls und relativ zum umgebenden Molekülverbund in künstlichen und biologischen Membranen (43).

Analog wie bei Methylverzweigungen im Fettsäurerest zeigt sich für Phosphatidylethanolamin und seine Derivate eine Abnahme der Umwandlungstemperatur T_H mit der Anzahl der Methylsubstituenten am quartären Ammoniumstickstoff, wobei das Phosphatidylcholin, als trimethylsubstituierendes Derivat, den niedrigsten Wert aufweist (72).

Die Cholingruppe des 1,2-Diacyl-phosphatidylcholins der Abb. 6 (S. 34) ist nicht ganz exakt dargestellt; sie bedarf einer konformativen Richtigstellung sowie einer Ergänzung: die vorherrschende Konformation der $O-C-C-N^+$ -Gruppierung ist eine gauche-Anordnung (73) um die $C-C$ -Bindung, wie Abb. 8 (S. 55) verdeutlichen soll. Durch die gauche-Anordnung dieser Bindung wird der positiv geladene Stickstoff quasi "zurückgebogen" in Richtung des negativ geladenen Sauerstoffatoms der Phosphatgruppe; damit stehen sich die beiden (anziehenden) Ladungen näher als in der trans- oder antiplanaren Konformation, was eine

bessere elektrostatische Wechselwirkung erlaubt. Dies kann aber nicht der Hauptgrund für die Bevorzugung der gauche-Anordnung sein, denn sie ist auch in Phosphatidylethanolamin noch bei pH 10 dominant, wo der Stickstoff nicht mehr protoniert, sondern neutral vorliegt und somit das Argument der Anziehung gegensinniger Ladungen entfällt. Eine Berechnung ⁽⁷⁴⁾ zeigt vielmehr, daß der primäre Beitrag zur Stabilisierung dieser gauche-Konformation von Nachbarwechselwirkungen zwischen bindenden und antibindenden Orbitalen herrührt, elektrostatische und sterische Wechselwirkungen also nur sekundär wichtig sind.

Bemerkenswert dabei ist, daß diese bevorzugte gauche-Konformation der O-C-C-N-Gruppierung auftritt in Phosphatidylethanolaminen, Phosphatidylcholinen und Sphingomyelinen, und zwar sowohl im ("festen") Gelzustand wie auch in der flüssig-kristallinen Phase, von den Vorgängen bei der Phasenumwandlung also nicht beeinflußt wird. Das konnte durch Ramanspektroskopie von Lipiddispersionen direkt nachgewiesen werden ⁽⁷⁵⁾. Ein Tausch des Glycerinteils der Phosphatidylethanolamine beziehungsweise -choline gegen Sphingomyelin hat praktisch keine Auswirkung auf Struktur und Orientierung der polaren Kopfgruppen und ihre intermolekulare Wechselwirkungsenergie, was bedeutet, daß dieser gauche-Effekt von allgemeinerer Bedeutung ist und wahrscheinlich auch in biologischen Membranen zum Tragen kommt.

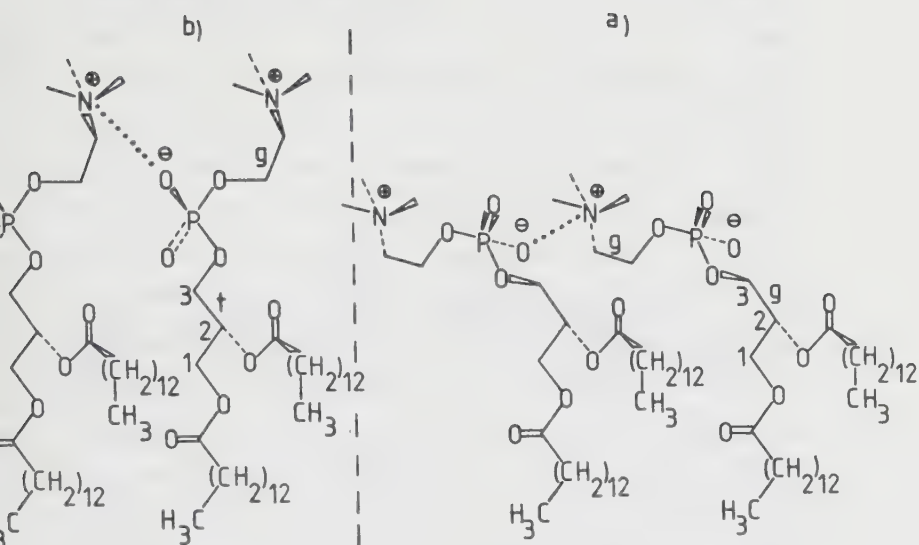


Abb. 8: Kopfgruppenkonformationen und intermolekulare Wechselwirkung in Dimyristoylphosphatidylcholin

Die zu Abbildung 6a (S. 34) noch zu erwähnende Ergänzung zeigt Abbildung 8b: Die C-C-Bindung um die Atome 2 und 3 des Glycerinteils ist im Prinzip frei drehbar.

Im Dimyristoylphosphatidylcholin existiert neben der in Abbildung 8a gezeigten gauche-Konformation dieser C₂-C₃-Glycerinbindung noch eine energetisch gleichwertige antiplanare Anordnung ⁽³⁴⁾ (Abb. 8b). Damit bilden die drei Glycerinkohlenstoffatome zusammen mit der Myristinsäure am C₁ des Glycerins eine antiplanare Zickzackkette, die bis zur Phosphatgruppe des Cholinteiles reicht. Die Aus-

zeichnung dieser beiden Orientierungen vor allen anderen möglichen rührt daher, daß in ihnen die intermolekulare elektrostatische Wechselwirkung maximal ist. Gleichwertig sind sie deswegen, weil sie durch Umklappen der Cholin-Gruppe auseinander hervorgehen: während die Phosphatgruppe sich an ihrem ursprünglichen Ort verharrend nur dreht, tauscht der Ammoniumstickstoff seinen rechts von ihm stehenden Wechselwirkungspartner in der Lipiddoppelschicht gegen den links stehenden ein, beziehungsweise umgekehrt.

Man kann auch sagen, daß der Winkel, den der P-N-Vektor der Cholingruppe mit der Ebene der Membran (definiert durch Anfang oder Ende der Fettsäureketten) bildet, für den Fall der trans-Konformation an C₂ und C₃ des Glycerinteils 27° beträgt (Abb. 8b, 9b), während er für die entsprechende gauche-Anordnung 17° groß ist ⁽³⁴⁾ (Abb. 8a, 9a). In Abbildung 9 ist zusätzlich noch die abwechselnde Längsverschiebung (entlang der Doppelschichtnormalen) benachbarter Lipidmoleküle um 2.5 Å beziehungsweise zwei CH₂-Einheiten berücksichtigt ⁽³⁴⁾. Bei beiden Konformationen a) und b) liegt also die durch die negative Ladung des Sauerstoffs der Phosphatgruppe und die positive Ladung des Stickstoffes determinierte Ebene des Cholin-Dipols ungefähr parallel zur oben definierten Ebene der Membran.

Damit ist die Voraussetzung zur optimalen Wechselwirkung im polaren Bereich benachbarter Lipidmoleküle geschaffen. Einen vergrößerten Ausschnitt einer Doppelschichthälfte

zeigt Abbildung 9 im Schema.

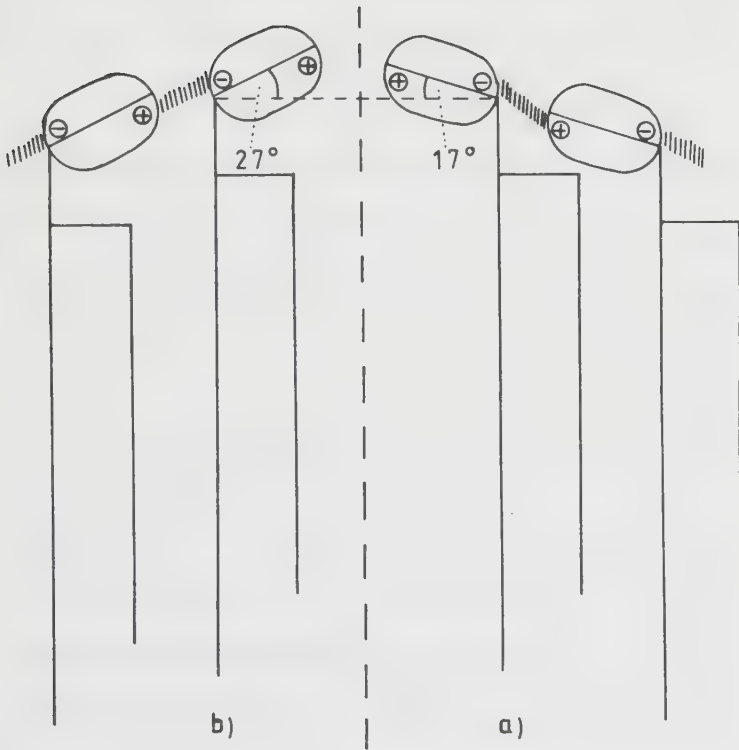


Abb. 9: Schema der polaren Wechselwirkung im Dimyristoylphosphatidylcholin

Die gezeigte Orientierung der polaren Kopfgruppen bleibt im Verlauf der Phasenumwandlung erhalten. Sie kann aber durch verschiedene externe Faktoren gestört werden, z. B. durch die Anwesenheit von Salzen in hoher Konzentration im membran-umgebenden Medium. Dadurch wird die intermolekulare elektrostatische Wechselwirkung der polaren Kopfgruppen vermindert, sei es durch Adsorption von Ionen und daraus resultierender Ladungskompensation oder infolge einer Änderung der Ionenstärke im wässrigen Medium. Als Folge davon ergibt sich eine vermehrte Hydratisierung der Kopfgruppendifole, wie sie auch beim Zusatz von Cholesterol zu einer bimolekularen Lipidmembran auftritt.

Reale, künstliche wie biologische, Membranen sind nicht so symmetrisch aufgebaut wie der Ausschnitt des Strukturschemas der Abbildung 9 nahelegt. Sie stellen auch keine zweidimensional unendlich ausgedehnten Flächen dar, sondern sind im Raum geschlossen, wie etwa die Vesikel in Abbildung 4e (S. 26), also mit einer äußeren und einer inneren Oberfläche, und damit mit einer dichteren Packung der polaren Kopfgruppen in der inneren Oberfläche als in der äußeren (76). Auch sind die verschiedenen Phospholipide einer natürlichen Membran nicht symmetrisch auf die beiden Hälften der Doppelschicht verteilt, was für Erythrozyten gezeigt werden konnte, und ferner ist die Distribution von Proteinen und Ionen asymmetrisch (56).

Dieser nicht symmetrische Aufbau der zwei Doppelschicht-hälften würde im Prinzip auch ein unterschiedliches Pha-

senumwandlungsverhalten implizieren, vorausgesetzt, die beiden Hälften sind in der Membranmitte, wo die Methylenden der Fettsäuren von "oberen" und "unteren" Lipidmolekülen in der van-der-Waals-Wechselwirkung stehen, nicht oder nur schwach aneinander gekoppelt.

Genau dies, nämlich die (fast) unabhängige Phasenumwandlung der beiden Hälften einer Lipiddoppelschicht konnte an Vesikeldispersionen künstlicher Membranen aus nur einer Lipidart nachgewiesen werden ⁽⁵⁶⁾: Dotiert man die äußere Oberfläche solcher Vesikel mit zwei- (UO_2^{2+}) oder dreiwertigen (Pr^{3+} , Yb^{3+}) Kationen, so zeigt sie eine deutlich höhere Phasenübergangstemperatur T_H als die innere, wohin die Kationen nicht gelangen können.

3. Modellbetrachtungen zum Umwandlungsmechanismus

3.1. Die Hauptumwandlung

Phasenübergänge und kritisches Verhalten sind aus der Physik bekannt u. a. von magnetischen Kristallen, normalen und Superflüssigkeiten. Die wichtigen Aspekte dieser heute wieder sehr aktuellen Frage sind offensichtliche Ähnlichkeiten in Bezug auf die kritischen Phänomene vieler auf den ersten Blick unterschiedlicher Systeme. Auch die für die Lipidmonoschicht sich ergebenden kritischen Exponenten und die Phasenumwandlungstemperatur passen in dieses allgemeine Schema ⁽⁷⁷⁾.

Molekularmechanistische Vorstellungen des Phasenüberganges einer bimolekularen Lipidmembran müssen primär berücksichtigen, daß die intermolekularen Dispersionskräfte zwischen großen Molekülen, wie sie Lipide darstellen, ziemlich langsam mit der Entfernung abnehmen, anders als für kleine Moleküle. Ferner wird die Wechselwirkung zwischen zwei Lipidmolekülen nur wenig aussagen über das Ensemble, die Doppelschicht. Auch Konformation und relative Orientierung der Moleküle zueinander beeinflussen die inter- und intramolekularen Kräfte und damit die physikalischen und chemischen Eigenschaften.

Was geschieht auf molekularer Ebene beim Übergang der (festen) Gelphase in die flüssig-kristalline Phase? Zur Vereinfachung soll eine wässrige Dispersion aus einem einzigen Phospholipid, eine "Modellmembran", betrachtet werden, und zwar in Abhängigkeit von der Temperatur und unter Konstanzhaltung aller anderen Parameter wie pH-Wert, Ionenstärke, Druck, etc., welche die Phasenumwandlung beeinflussen können.

Erhitzt man diese Dispersion kontinuierlich von einer niedrigen Temperatur T_1 auf eine hohe Temperatur T_2 , so muß ein Modell des Phasenüberganges bei der Temperatur T_H ($H \hat{=}$ Hauptumwandlung; $T_1 < T_H < T_2$) die zwei folgenden experimentellen Tatsachen erklären:

- 1) Die Dicke der Doppelschicht (gemessen von der Oberfläche zu Oberfläche) verringert sich mit ansteigender Temperatur ein- oder mehrmals um 1 bis 1,2 Å, bei einer

bestimmen, für das vorhandene Phospholipid charakteristischen Temperatur T_H aber abrupt um mehrere Ångström (78), für Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) z. B. bei 41°C um 6 - 8 Å (36).

- 2) Trotzdem zeigen dilatometrische Untersuchungen (37) bei T_H eine Zunahme des Volumens der Doppelschicht um 1 - 2%.

Die Dicke der bimolekularen Membran ist bei der Temperatur $T_1 < T_H$ so groß, daß die Acylketten der Lipidmoleküle vollständig gestreckt vorliegen müssen. In dieser all-trans-Anordnung, dem energetisch niedrigsten Zustand einer gesättigten Kohlenwasserstoffkette, zeigt jede C-C-Bindung den trans-Winkel mit der vorhergehenden Bindung und alle Kohlenstoffatome sind koplanar.

Die all-trans-Konformation führt so zur dichtesten Packung der Acylketten. Bei der Ausgangstemperatur $T_1 < T_H$ liegt also der maximal geordnete, feste oder Gelzustand vor, in dem die Fettsäureketten der Lipidmoleküle ihre größtmögliche Länge aufweisen, d. h. sie sind all-trans-geordnet und stehen außerdem senkrecht zur Doppelschicht. Um die beiden experimentellen Vorgaben zu erfüllen, könnte man vermuten, daß sich die effektive Kettenlänge durch Schrägstellung zur Doppelschichtnormalen vermindert und dadurch die Dicke der Membran bei $T_2 > T_H$ verkleinert, während die kleine Volumenzunahme von der größeren Entfernung der Ionendipole in der fluiden Phase voneinander beziehungsweise von einem größeren Platzbedarf bei der

Rotation der Acylketten bei der höheren Temperatur T_2 herrühren sollte.

Diese These einer zunehmenden Schrägstellung der Fettsäureketten mit der Temperatur erklärt aber nicht die diskontinuierliche Abnahme der Membrandicke um $1 - 1,2 \text{ \AA}$, und auch nicht die Abnahme um mehrere $\text{\AA}$ genau bei T_H . Es muß also in obiges Bild eine Art von nicht-kontinuierlicher Energieaufnahme integriert werden.

Beim Erwärmen der künstlichen bimolekularen Doppelschicht wird der Membran Energie zugeführt. Intermolekular stehen die Lipide untereinander in einer doppelten Wechselwirkung: An der Membranoberfläche ziehen sich die Dipole der Zwitterionen der polaren Gruppen gegenseitig an, während sich der Zusammenhalt des hydrophoben Membraninnern aus der Summe der inter- und intramolekularen van-der-Waals-Kräfte ergibt. Da die dipolare Wechselwirkung kleiner ist als die (anziehenden) Dispersionskräfte und letztere außerdem mit der Temperatur anwachsen (77), wird die zugeführte Energie primär dazu verwendet werden, um den Abstand der Dipole voneinander kontinuierlich zu vergrößern. Die Konformation der polaren Kopfgruppen ändert sich nicht beim Übergang vom Gel- in den fluiden Zustand, also muß der Ort der notwendigen diskontinuierlichen Energieaufnahme in den Fettsäurealkylketten lokalisiert sein. Erwärmt man daher die wässrige Dispersion einer Lipiddoppelschicht von $T_1 < T_H$ auf $T_2 > T_H$, so wird die im Gelzustand vorhandene energieärmste all-trans-Anordnung der

Alkylketten in spezielle, die Länge der Ketten verkürzende Konformationen übergeführt.

Eine C-C-Einfachbindung einer Alkylkette kann aus ihrer trans-Anordnung zu einer von zwei möglichen gauche-Anordnungen rotieren, was mit einer Energieaufnahme von ca. $0,6 \text{ kcal mol}^{-1}$ verbunden ist. Im Prinzip sind auch andere Konformationen möglich, verlangen aber eine zu hohe Energie, um bei normaler Temperatur signifikant aufzutreten. Wie aus der energetisch am niedrigsten liegenden trans-Anordnung (Rotationswinkel 0°) die beiden gauche-Konformationen (Rotationswinkel $112^\circ = g$ bzw. $-112^\circ = \bar{g}$) hervorgehen, zeigt Abbildung 10.

Nach einer trans $\rightarrow$ gauche-Rotation liegen die Kohlenstoffatome einer Kette nicht mehr in derselben Ebene; die Kette ist abgelenkt, verkürzt und beansprucht bei der Rotation um die Längsachse eine größere Fläche. Findet diese Isomerisierung einer einzelnen Alkylkette in einer dichtest gepackten Anordnung gestreckter Ketten, wie es eine Lipiddoppelschicht im Gelzustand ist, statt, dann wird dadurch die konformative Ordnung der Nachbarketten vermindert und außerdem freier Raum geschaffen.

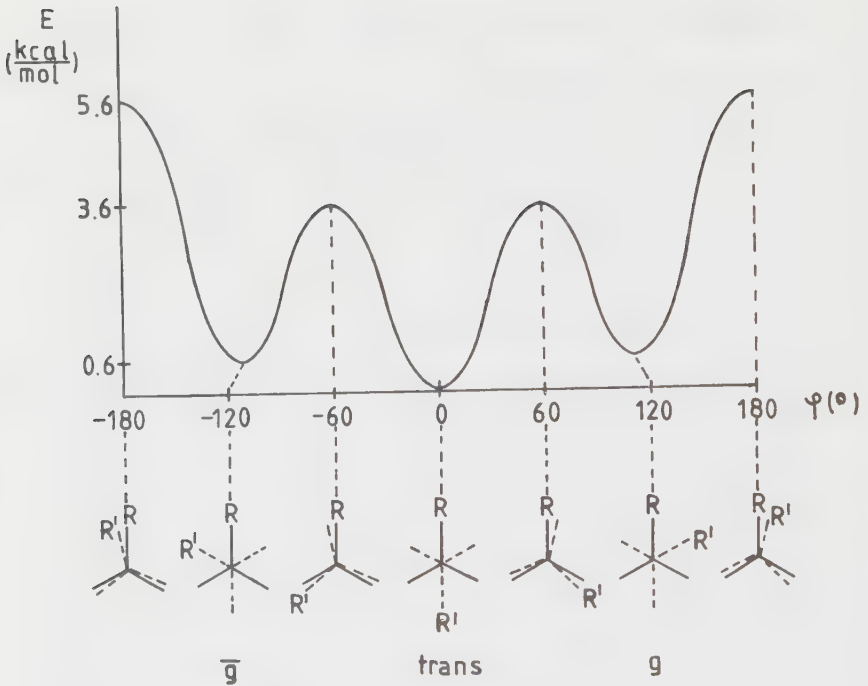


Abb. 10: Trans- und gauche-Potentiale einer Alkylkette

Das macht diesen Effekt kooperativ, denn dadurch werden die benachbarten Ketten quasi angestoßen, auch zu isomerisieren. Dieses kooperative Verhalten charakterisiert die Hauptumwandlung eines Lipidphasenüberganges bei der Temperatur T_H aus dem Gelzustand bei der Temperatur $T_1 < T_H$ mit einer dichtesten Anordnung der Fettsäureketten in den fluiden Zustand bei der Temperatur $T_2 > T_H$, der eine ge-

ringere Ordnung und eine um einige Prozent kleinere Dichte aufweist.

Die Alkylketten in der "flüssigen" Lipidphase sind aber nicht regellos ungeordnet wie etwa in einem geschmolzenen Paraffin, sondern es bleibt ein gewisses Ordnungsprofil erhalten mit relativ konstanten Ordnungsparametern bis ungefähr zur Mitte der Fettsäureketten; erst gegen das Methylenende hin fällt der Ordnungsgrad kontinuierlich ab. Auch zeigt die mit dem Glycerinkohlenstoff C₁ veresterte Fettsäure bei mehreren Phospholipiden durchwegs eine höhere Ordnung als die am Glycerin-C₂ sitzende Kette (79).

Im Alkylkettenensemble einer bimolekularen Lipidmembran treten nur solche Konformere auf, die die gestreckte Anordnung der Ketten im Prinzip beibehalten. Diese Konformationen ergeben sich aus regelmäßigen, in bestimmter Weise angeordneten gauche- und trans-Bindungen, die man als Kinken bezeichnet.

Einige Beispiele zeigt Abbildung 11.

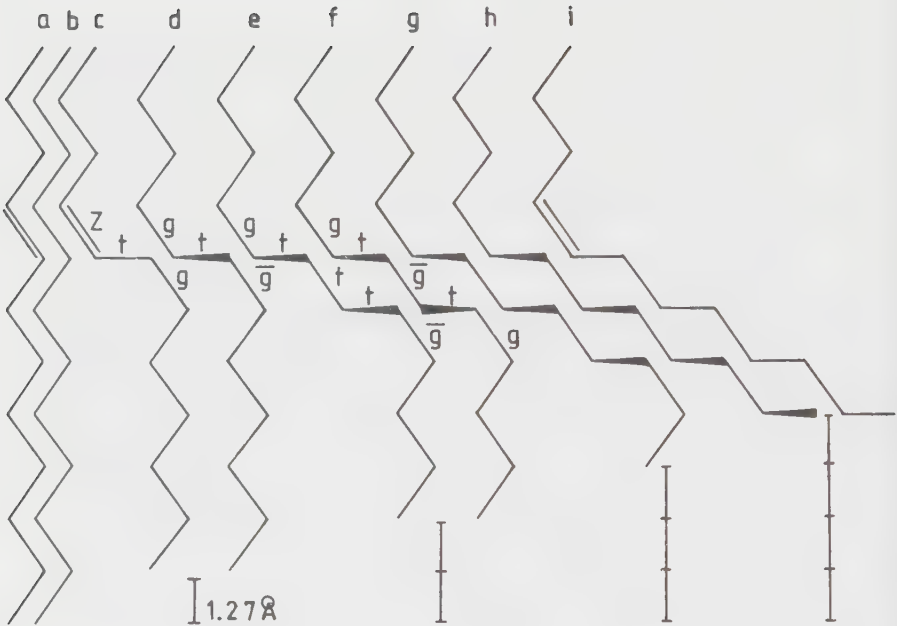


Abb. 11: Kinken und Konformationen im Dodecan
beziehungsweise Dodecen-4.

- | | |
|-------------------------|---------------|
| (a) E-4-Dodecen | (d) 2g1-Kinke |
| (b) Dodecan (all-trans) | (e) 2g2-Kinke |
| (h) Dodecan (gauche) | (f) 3g2-Kinke |
| (c) Z-4-Dodecen (Z,t,g) | (g) 2g3-Kinke |
| (i) Z-4-Dodecen (Z,t,t) | |

Eine xgy-Kinke enthält x gauche Bindungen und verkürzt die Alkylkette im Vergleich zur all-trans-Konformation um $y \cdot 1,27 \text{ \AA}$, den Wert für eine CH_2 -Einheit.

Alle anderen C-C-Bindungen verbleiben in der trans-Anordnung. Eine 2g1-Kinke (Abb. 11d) hat also die Konformationsfolge ...ttt g t $\bar{g}$ ttt und verringert die effektive Kettenlänge um $1,27 \text{ \AA}$. Eine 2g2-Kinke (Abb. 11e) besteht ebenso aus zwei gauche Bindungen, verkürzt die Kette aber um $2 \cdot 1,27 \text{ \AA}$. Analog enthält die 3g2-Kinke (Abb. 11 f) drei gauche-Konformationen und verkleinert die Länge der Alkylkette wieder um $2,54 \text{ \AA}$. Umgekehrt bewirken die zwei gauche-Anordnungen der 2g3-Kinke (Abb. 11g) eine Verkürzung der effektiven Kettenlänge um $3 \cdot 1,27 \text{ \AA}$. Außer Kinken sind noch alternierende gauche-trans-Anordnungen möglich, die Helixstrukturen ergeben.

Bei allen Temperaturen über dem absoluten Nullpunkt enthalten viele Feststoffe Defekte, deren Anzahl mit wachsender Temperatur zunimmt, weil die Bildung von Fehlstellen mit einem Ansteigen der Entropie verbunden ist.

Die Defekte können einfach Leerstellen in einem ansonsten regelmäßig gepackten Gitter sein, oder komplexere Formationen wie z. B. Grenzflächen zwischen unterschiedlich angeordneten Kristallbezirken. Eine Defektstruktur eines solchen Typs stellt ein einfaches Modell für die Lipidphasenumwandlung dar ⁽³⁰⁾: Wenn sich die Temperatur, ausgehend von $T_1 < T_H$, der Hauptumwandlungstemperatur nähert, entstehen im relativ perfekten Gitter der Gelphase kleine,

zufällig (d. h. gemäß dem Fehlstellenverteilungsmuster) orientierte Lipidbezirke. In diesen isolierten, kleinen Inseln bildet sich bei Temperaturerhöhung die flüssig-kristalline Phase, wodurch aber unterhalb T_H die große Fernordnung der Gelphase nicht beeinträchtigt wird. Bei weiterer Temperatursteigerung wachsen die Oberflächen dieser kleinen Domänen, bis sie bei einer bestimmten Temperatur koaleszieren. An diesem Punkt wird die Kontinuität der Gelphase durch die Kontinuität der flüssig-kristallinen Phase ersetzt, und die Temperatur, bei der das geschieht, kann mit der Phasenumwandlungstemperatur T_H identifiziert werden. Ein solches Bild der Phasentransition beinhaltet notwendigerweise auch prä- und posttransitionale Phänomene: Unterhalb von T_H sind in der Gelphase bereits kleine Bereiche fluiden Lipids vorhanden und oberhalb noch Reste kristallinen Lipids im sonst flüssigen Zustand.

Das heißt aber auch, daß die Transition nicht exakt bei einer sehr genau definierten Temperatur abläuft, sondern in einem Temperaturbereich. Da die flüssig-kristalline Phase einen geringeren Ordnungsgrad aufweist als die Gelphase, wird der Übergang in die flüssig-kristalline Phase in der Nähe von Defekten leichter und bei einer etwas tieferen Temperatur ablaufen als die Umwandlung von Gelbezirken ohne Defektstellen.

Für die eben geschilderten Vorstellungen des Lipidphasenüberganges existieren auch experimentelle Hinweise:

So konnten unterschiedlich orientierte Domänen in Lipid-doppelschichten in der Gelphase (und damit Grenzflächen beziehungsweise Gitterfehlstellen) elektronenmikroskopisch direkt beobachtet werden ⁽⁸⁰⁾. Ferner zeigen Ramanspektren ⁽³⁰⁾ wässriger Lipiddispersionen, daß die Intensität der der Vibration zugeordneten Bande der all-trans-Konformation der Fettsäureketten bereits bei einer 15°C unterhalb der Hauptumwandlung T_H liegenden Temperatur abzunehmen beginnt - mit anderen Worten, daß die rotationelle Restriktion der Fettsäurereste, wie sie für den kristallinen Gelzustand charakteristisch ist, schon beträchtlich unterhalb von T_H nicht mehr streng gilt.

Die in Abbildung 11 (S. 66) gezeigten Kinken finden sich, sowohl als Defekte wie auch als Strukturelemente, in Polymeren, Paraffinen und wahrscheinlich ebenso in bimolekularen Lipidschichten. Hier treten, bei einer Temperatur sehr viel kleiner als T_H , Kinken nur einzeln und isoliert in geringer Zahl auf; sie sind in der in der Gelphase bestimmenden all-trans-Anordnung der Acylketten nur Punktdefekte, nicht aber Elemente der Struktur, weil sie die Dicke der Doppelschicht nicht verkleinern (siehe Abb. 12a, S. 71).

Steigt die Temperatur in Richtung T_H , so treten Kinken vermehrt auf. Sobald pro Fettsäurekettenpaar im Durchschnitt eine Kinke vorhanden ist, werden sie aber zum Strukturelement, denn ein solcher Kinkblock (Abb. 12b) verkürzt die Membrandicke um eine CH_2 -Einheit. Die durch die Kinken

bewirkte Kettenversetzung läuft dabei schräg durch die gesamte Doppelschicht. Defekte in dieser Struktur stellen isolierte all-trans-Ketten beziehungsweise Kettenpaare mit zwei Kinken dar. Entsprechend wird die Dicke der Doppelschicht um die Länge zweier CH_2 -Gruppen kleiner, wenn bei weiter steigender Temperatur pro Kettenpaar zwei Kinken vorhanden sind.

Die Kinkenkonzentration oder Fehlstellenzahl der Gelphase nimmt also mit der Temperatur zu, entsprechend einer wachsenden Entropie des Systems. Die bei der Temperatur der Hauptphasenumwandlung T_H beobachtete signifikante Verkürzung der Alkylketten kann aber nicht mit einer analogen weiteren Vergrößerung der Kinkenzahl erklärt werden, weil für die Verkleinerung der Membrandicke bei T_H soviele Kinken pro Kette erforderlich wären, daß die pro Alkylkette maximal mögliche Zahl überstiegen würde, auch wenn sie in Helixkonformation vorläge. Die bei T_H auftretende Kettenverkürzung um mehrere Ångström kann hingegen durch Kinken höherer Ordnung, sogenannte Jogs, verifiziert werden. Sie haben die allgemeine Konformationsfolge $\dots g t_z \bar{g} \dots$ mit größeren Werten für z (vgl. 2g2- oder 2g3-Kinke mit $z = 3$ oder 5, Abb. 11e,g, S. 66). Deswegen erstreckt sich ein Jog jeweils über ein zusammengehöriges Kettenpaar der beiden Hälften der Lipiddoppelschicht. Ein Jog enthält zwei gauche-Bindungen und folglich entfällt bei T_H im Schnitt auf jede einzelne Acylkette auch nur eine gauche-Konformation (Abb. 11h). In diesem als Gaucheblock bezeich-

neten Zustand (Abb. 12c) richten sich daher längere Kettenteile schräg zur Doppelschichtnormalen aus und die Membrandicke kann bei $T = T_H$ schlagartig um mehrere Ångström verkleinert werden.

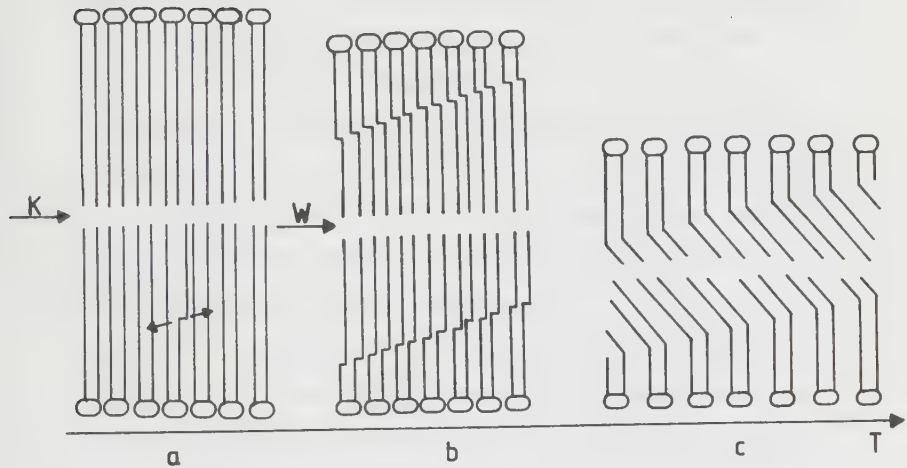


Abb. 12: (a) Kinke als Punktdefekt in der Lipiddoppelschicht ($T \ll T_H$)
 (b) Kinkblock ($T < T_H$)
 (c) Gaucheblock ($T = T_H$)

Ein wichtiges, aus Abbildung 12 ersichtliches Detail ist die Kooperativität des Phasenüberganges: Die Umwandlung des Kinkblockes in den Gaucheblock ist ein kolligativer

Effekt, d. h.: gebunden an das Vorliegen vieler identischer Moleküle, die miteinander durch die gleiche Art von Wechselwirkung gekoppelt sind. Ebenso kann bereits der Kinkblock nur durch den kooperativen Effekt zustandekommen. Ist einmal durch Keimbildung (K in Abb. 12) in der all-trans-Anordnung der Fettsäureketten eine Kinke entstanden, so stößt die geknickte Kette auf die dichtest gepackten Nachbarketten, welche die Störung durch Ausbildung von neuen Kinken in die Struktur integrieren.

Durch dieses Wachstum (W in Abb. 12) entsteht der geordnete Kinkblock, in dem die Kinken benachbarter Ketten um jeweils zwei CH_2 -Gruppen versetzt sind. Das Wachstum und damit die Wahrscheinlichkeit des Zustandekommens des Kinkblocks ist aber nur dann schneller als die Keimbildung, wenn sich die Defekt-Kinke in einer sterisch günstigen Position zu den Nachbarketten ausbildet.

Dieses Konzept der Lipidphasenumwandlung gibt also die experimentellen Tatsachen befriedigend wieder. Auch der unterschiedliche Effekt, den eine cis- beziehungsweise trans-Doppelbindung in den Fettsäuren der Lipide auf die Übergangstemperatur T_H ausübt, läßt sich damit zwanglos erklären. Zum Einbau einer Kinke in eine Alkylkette sind mindestens zwei gauche-Anordnungen erforderlich, entsprechend einem Energiebedarf von zweimal $3,6 \text{ kcal mol}^{-1}$ zur Überwindung der Rotationsbarriere (siehe Abb. 10, S. 64). Ein E-Alken ist sehr ähnlich strukturiert wie ein Alkan in all-trans-Konformation (siehe Abb. 11a, b, S. 66), was

nicht zutrifft für ein Z-Alken (siehe Abb. 11i), welches wegen der Geometrie der cis-Doppelbindung sozusagen bereits eine halbe Kinke enthält. Durch Bildung nur einer gauche-Konformation im cis-Alken entsteht aus der Z-t-t-Anordnung die energetisch um $0,6 \text{ kcal mol}^{-1}$ höher liegende Z-t-g-Konformation, die einer 2g1-Kinke sehr ähnlich ist (siehe Abb. 11c, d). Diese letztere Alken-Anordnung wird bei Temperaturen unterhalb T_H wegen der Strukturähnlichkeit in den Kinkblock eingebaut; da das Alken aber seine energieärmere Z-t-t-Anordnung, welche bereits ähnlich strukturiert ist wie der Gaucheblock bei $T = T_H$, einzunehmen trachtet, reduziert sie die Größe der Kinkblöcke und erniedrigt die Phasenumwandlungstemperatur T_H durch ihre bloße Anwesenheit in der Lipidschicht.

Gemäß den entwickelten Vorstellungen ist eine Revision der Nomenklatur der verschiedenen Lipidphasen vorzunehmen: Die bisher als ungeordneter und flüssiger Zustand bei einer Temperatur über der Hauptumwandlung T_H bezeichnete Phase stellt keine chaotische, willkürliche Anordnung von Konformationen der Fettsäureketten dar, sondern es bleibt sehr wohl ein Teil der Ordnung der kristallinen Gelphase auch in der fluiden Phase jenseits von T_H vorhanden, weshalb man besser von flüssig-kristallinem Zustand spricht.

Aus dem Kinkblock- / Gaucheblockmodell der Lipidphasenumwandlung kann man außerdem rationelle Hinweise für die passive Permeation neutraler Moleküle durch eine Membran

ableiten (81). Kinken sind sowohl bei $T < T_H$, als Kinkblöcke, wie auch bei $T > T_H$, als Defekte in der Gaucheblockanordnung, vorhanden. Sie sind nicht an den Ort ihrer Entstehung gebunden, sondern längs der Fettsäureketten schnell beweglich. Kombiniert man z. B. zwei 2g1-Kinken in einem zusammengehörigen Kettenpaar, so schließen sie ein freies Volumen ein, das das hydrophobe Innere der Membran rasch von Oberfläche zu Oberfläche durchqueren kann. Werden solche Hohlraumvolumina an der Membranoberfläche vom umgebenden Wasser her durch kleine Moleküle besetzt, so können sie durch die Bewegung der Kinken durch die Membran geschleust werden, d. h. also, daß Kinken die Funktion von (nichtspezifischen) Carriern übernehmen.

3.2. Die Vorumwandlung

Die bisherigen Ausführungen über die thermischen Phasenumwandlungen von Lipiddoppelschichten haben sich nur mit der Hauptumwandlung bei der Temperatur T_H befaßt. Kalorimetrische (82, 83), Röntgen- (84) und Elektronenspinresonanz-Untersuchungen (85, 86) bimolekularer Lipidmembranen aus synthetischen Phosphatidylcholinen (Lecithinen) weisen aber klar zwei endotherme Phasenübergänge nach (beziehungsweise sogar drei; die dritte, bei der Temperatur T_S stattfindende sogenannte Subumwandlung wird in Punkt 3.3. diskutiert): den schon behandelten scharfen,

d. h. in einem relativ engen Temperaturbereich stattfindenden Hauptübergang und daneben bei ungefähr $5 - 10^{\circ}\text{C}$ tieferer Temperatur eine breitere, weniger endotherme Vorumwandlung bei der Temperatur T_V . Diese Vorumwandlung tritt auch bei E.coli-Membranen auf (87).

Die Kurve B der Abbildung 13 (88) zeigt für eine multilamellare wässrige Dispersion von hochreinem Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) die Phasenumwandlung beim Haupt- und Vorumwandlungspunkt mit den dafür charakteristischen Temperaturen T_H und T_V , gegeben durch die beiden Maxima der kalorimetrischen Messung. Die Fläche der zwei Banden entspricht der bei T_H beziehungsweise T_V aufgenommenen Umwandlungsenthalpie ΔH_H beziehungsweise ΔH_V .

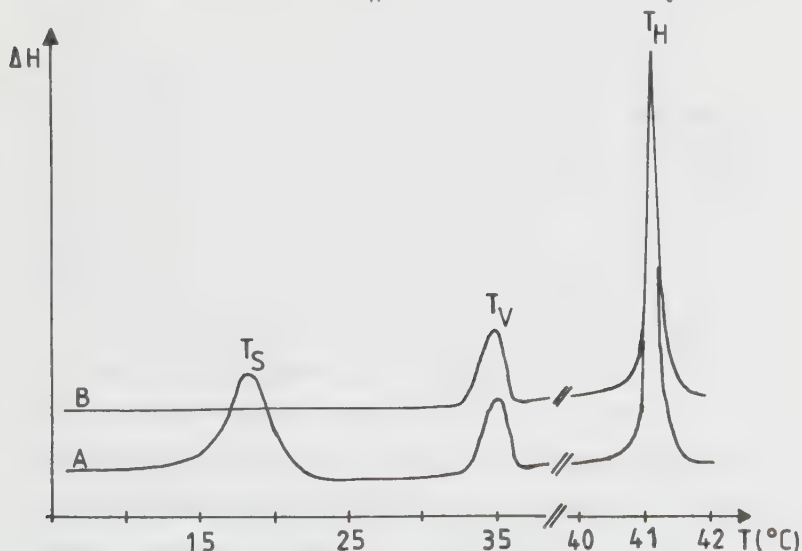


Abb. 13: Kalorimetrisches Phasenprofil von DPPC (88).

Die Vorumwandlung hängt, wie die Hauptumwandlung, von verschiedenen Strukturparametern der Lipide ab:

Erstens ist sie gebunden an das Vorhandensein der Cholin-gruppierung im Lipid ⁽⁷²⁾, d. h. sie tritt nur in Lecithinen (Phosphatidylcholinen), nicht aber in Phosphatidylethanolaminen auf, auch nicht, wenn diese am Stickstoff eine oder zwei Methylgruppen tragen, sondern nur im Trimethylammoniumderivat, dem Cholin.

Zweitens muß die Dispersion mindestens 20% Wasser enthalten; bei kleineren Wassergehalten zeigt sich keine Vorumwandlung, sondern die kristalline Phase bleibt bis $T = T_H$ erhalten.

Diese beiden unabdingbaren Voraussetzungen für das Auftreten einer Vorumwandlung lassen sich also in der Forderung zusammenfassen, daß das Phospholipid als polare Kopfgruppe den Cholinrest enthalten muß, der von einer (strukturierten) Wassermatrix geeignet hydratisiert ist.

Drittens hängt die Lage des Vorumwandlungspunktes auf der Temperaturskala ab von der Länge der im Lecithin vorhandenen Fettsäuren, und zwar ist er, wie der Hauptumwandlungspunkt, proportional dazu. Die Temperaturdifferenz zwischen Haupt- und Vorumwandlung nimmt dabei für wachsende Länge der Acylketten ab. Das ist aus Tabelle 7 für die drei mit zwei gleichen Fettsäuren identisch disubstituierten 1,2-Diacyl-phosphatidylcholine DMPC, DPPC und DSPC ersichtlich. Hierin sind M, P und S wieder die Abkürzungen für Myristoyl-, Palmitoyl- und Stearoylrest der

Kettenlängen $n = 14, 16$ und 18 Kohlenstoffatome.

Auch die mit diesen drei Fettsäuren aufgebauten gemischten Lecithine zeigen die Vorumwandlung, mit Ausnahme von 1-Myristoyl-2-stearoyl-phosphatidylcholin, während sein Stellungsisomeres SMPC eine mehr als doppelt so große Vorumwandlungsenthalpie ΔH_V hat wie DMPC oder DSPC.

α -Lecithin	n	T_V ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_V (kcal mol $^{-1}$)
DMPC	14	14.4	0.83
DPPC	16	34.8	0.92
DSPC	18	50.4	0.89
SMPC	18, 14	20.03 ± 0.16	1.95 ± 0.12
MSPC	14, 18	—	—
PMPC	16, 14	10.77 ± 0.17	0.28 ± 0.04
MPPC	14, 16	22.76 ± 0.17	0.22 ± 0.04
SPPC	18, 16	30.78 ± 0.18	0.52 ± 0.08
PSPC	16, 18	39.91 ± 0.18	0.36 ± 0.08

Tab. 7: Temperaturen und Enthalpien der Vorumwandlung von Lecithinen (33).

(Die entsprechenden Parameter der Hauptumwandlung zeigen Tab. 4, S. 30 und 5, S. 32).

Die Übergangsparameter T_V und ΔH_V der Vorumwandlung sind auch, analog zur Hauptumwandlung, sensibel für die Stellung der verschiedenen Fettsäuren: In den beiden stellungsisomeren Paaren PMPC und MPPC beziehungsweise

SPPC und PSPC hat jeweils dasjenige Lecithin die niedrigere Vorumwandlungstemperatur, bei dem die längerket-
tige Fettsäure am C₁-Atom des Glycerins steht. Phasen-
Übergänge von Lecithinen differenzieren also viertens
zwischen stellungsisomeren gemischten Lipiden.

Fünftens ändert die Substitution von nur vier der 72
Wasserstoffatome gegen das ungefähr gleich große Fluor
das Phasenumwandlungsverhalten des Dimyristoyllecithins
drastisch, wobei sich auch deutliche Unterschiede für
verschiedene Stellungen der Fluoratome im Myristoylrest
ergeben (89). Werden die Wasserstoffe am Kohlenstoff 4,
8 oder 12 der Myristinsäure durch zwei Fluor ersetzt,
so zeigen die damit erhältlichen 1,2-Di-(x,x-difluoro-
myristoyl)-phosphatidylcholine (mit x = 4,8,12) erheb-
lich andere Phasenübergangstemperaturen als für das
nicht fluoriierte DMPC. Beachtenswert dabei ist, daß
für das 8,8-tetrafluorsubstituierte Derivat keine Vor-
umwandlung mehr auftritt, während alle Werte von T_H
und T_V deutlich von denen der nicht fluorierten Stamm-
verbindung verschieden sind und die Hauptumwandlung
sowohl zu tieferer wie auch zu höherer Temperatur ver-
schoben wird.

Eine vergleichende Übersicht gibt die folgende Tabelle.

α -Lecithin	T_H ($^{\circ}\text{C}$)	T_V ($^{\circ}\text{C}$)
DMPC	23.6	14.4
D(4,4-F ₂ M)PC	28.5	19.3
D(8,8-F ₂ M)PC	16.1	-
D(12,12-F ₂ M)PC	19.7	14.7

Tab. 8: Haupt- und Vorumwandlungstemperaturen T_H und T_V fluorierter Lecithine (D(4,4-F₂M)PC = 1,2-Di-(4,4-difluoromyristoyl)-phosphatidylcholin)⁽⁸⁹⁾.

Der Ersatz zweier Wasserstoff- gegen zwei etwa gleich große Fluoratome in jeder Fettsäurekette des Dimyristoyllecithins bringt also offensichtlich eine erhebliche Veränderung der Doppelschichtstruktur mit sich.

Damit muß aber die hinter der Fluorsubstitution stehende Idee, nämlich den ¹⁹F-Kern als nichtstörende Reporter-sonde für das Lipidphasenverhalten kernresonanzspektroskopisch in Abhängigkeit von der Temperatur zu verfolgen, ad acta gelegt werden. Die Substitution von Wasserstoff gegen Fluor wirkt vielmehr ähnlich disruptiv, nur nicht ganz so gravierend, wie die Einführung einer cis-Doppelbindung in eine gesättigte Fettsäurekette, wobei sich in beiden Fällen die maximale Störung für eine Substitution ungefähr in der Kettenmitte ergibt (vgl. ⁽³⁸⁾ und Tab. 6, S. 37). Weiterhin hängt, sechstens, das Auftreten der Vorumwandlung von der Art der Darstellung der Lipiddispersion ab ⁽⁹⁰⁾. Benutzt man zur Dispergierung

der Lecithine intensive Ultrabeschallung, so entstehen Monodoppelschichtvesikel kleinen Durchmessers, die keine Vorumwandlung und auch reduzierte Hauptumwandlungstemperaturen zeigen, verglichen mit den größeren, multilamellaren Dispersionen, worauf sich alles bisher Gesagte bezieht.

Mit Hilfe der Ramanspektroskopie ⁽⁹¹⁾ konnten sogar kleine (Radius = 300 Å) von großen (Radius = 1000 - 2000 Å) unilamellaren Vesikeln durch ihr unterschiedliches thermotropes Phasenverhalten differenziert werden. Während für erstere die Hauptumwandlung von DMPC zwischen 10 und 27°C liegt, erfolgt sie für letztere zwischen 22 und 28.5°C. Beide unilamellaren Typen zeigen also unscharfe Übergangsbereiche und keinen Umwandlungspunkt, wie er für multilamellare Liposomen bei 23.6°C für DMPC gefunden wird.

Der Grund für die Unschärfe der Phasenumwandlung bei unilamellaren Vesikeltypen liegt in der erheblich vermindernten kooperativen Lipidwechselwirkung im Vergleich zu multilamellaren Vesikeln. Aber auch für diese wurde raman-spektrometrisch keine Vorumwandlung gefunden für DMPC, obwohl sie durch Differentialkalorimetrie, Elektronenspinresonanz und Fluoreszenzspektroskopie einwandfrei dokumentiert ist. Also scheint, siebteens, die verwendete physikalische Meßmethode einen Einfluß auf das Vorhandensein und die Lage des Vorumwandlungspunktes zu haben, was auch daraus ersichtlich ist, daß die mit verschiedenen Methoden ^(31, 92, 93) gefundenen Temperaturwerte für

die Hauptumwandlung leicht, für die Vorumwandlung zum Teil aber schon deutlich differieren.

Schließlich und achtens verläuft die Vorumwandlung langsam, mit charakteristischen Zeiten in der Größenordnung von Minuten, im Gegensatz zur schnellen Hauptumwandlung. Multilamellare Dipalmitoyllecithin-Vesikel ergeben unter der Annahme einer Kinetik erster Ordnung eine gemittelte "Relaxationszeit" von 5 ± 2 Minuten ⁽⁹²⁾ für die Vorumwandlung.

Durch Vor- und Hauptumwandlung zeigt das thermotrope Verhalten von Lecithinmembranen also drei verschiedene Phasen in einem relativ schmalen Temperaturintervall, deren unterschiedliche molekulare Struktur kurz zusammengefaßt werden soll:

a) $T > T_H$:

Die Gaucheblockstruktur der flüssig-kristallinen Phase wurde schon früher erwähnt. In ihr sind die Lipiddoppelschichten zweidimensional in Lamellen gestapelt. Die Fettsäureketten der Lipide stehen parallel zur Doppelschichtnormalen oder, äquivalent, senkrecht zur Doppelschichtoberfläche. Die Dicke einer Lipiddoppelschicht ist minimal in diesem flüssig-kristallinen Zustand, der aber keine echte Flüssigkeit darstellt, da in ihm quasi nur die Acylketten der Phospholipide aufgeschmolzen vorliegen, der eigentliche kapillare Schmelzpunkt aber weit höher ist.

b) $T_V < T < T_H$:

In der Zwischenphase zwischen Vor- und Hauptumwandlung

ist das Gitter der Lipiddoppelschicht periodisch gewellt. Durch diese "Riffelung" ordnen sich die gestapelten Lamellen dreidimensional monoklin an. Die Wellung der Doppelschicht ergibt sich dadurch, daß die Acylketten der Fettsäuren jetzt einen Winkel α zur Doppelschichtnormalen bilden ⁽⁸⁴⁾, der aber kleiner ist als in der Gelphase und auch nicht konstant wie dort. Für Dimyristoyllecithin z. B. findet man in dieser Zwischenphase einen Neigungswinkel α der Fettsäureketten zur Doppelschichtnormalen zwischen 0 und 17°, während er für den Gelzustand konstant 23° beträgt ⁽⁹⁴⁾. Von den Bewegungsmöglichkeiten Fluktation, Rotation und gauche-trans-Isomerisierung, die den Fettsäureketten zur Verfügung stehen, friert die Rotation der Acylreste um ihre Längsachse beim Abkühlen einer Lipiddispersion am Vorumwandlungspunkt bei der Temperatur T_V ein, was durch geeignete Analyse von Lipid-Kernresonanzspektren direkt nachweisbar ist ⁽⁹⁵⁾. In der mikroskopisch heterogenen Zwischenphase ist die Dicke der Doppelschicht maximal, ebenso wie der intermolekulare Abstand zweier Lipidlamellen.

c) $T < T_V$:

In der Gelphase sind die Lipidfettsäureketten in der all-trans-Konformation enthalten, die ihrer größtmöglichen Länge entspricht. Kinken können als Einzeldefekte vorhanden sein, Kinkblöcke oder gauche-Anordnungen spielen keine Rolle. Der Neigungswinkel α ist größer als in der Zwischenphase, und konstant. Damit ergibt sich

für die Phospholipidanordnung ein zweidimensionales, von Defekten gestörtes Gitter von quasi-hexagonaler Symmetrie.

Die Abbildung 14 faßt die Strukturvariationen der einzelnen Lecithinphasen in Abhängigkeit von der Temperatur schematisch zusammen.

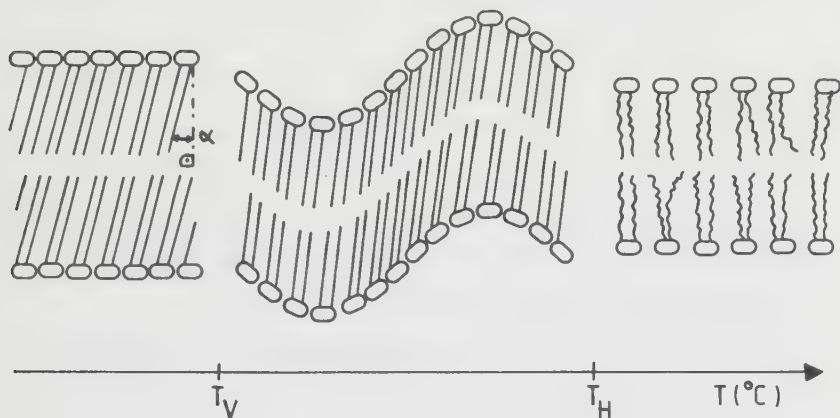


Abb. 14: Schema der Gel-, Zwischen- und fluid-kristallinen Phase von Lecithinen
(α = Neigungswinkel der Fettsäuren zur Doppelschichtnormalen)

Das Auftreten von Kinken und Kinkblöcken in der Zwischenphase entspricht einer Bildung von Defekten und entsprechenden Leerstellen im geordneten Gelzustand. Die Leerstellen verringern den Kontakt der Fettsäureketten unter-

einander, wozu auch der in der Zwischenphase variable Neigungswinkel der Acylketten beiträgt. Dadurch können zwei benachbarte Fettsäureketten z. B. an ihrem Carbonyl-anfang in engem Kontakt stehen, während sie an ihrem Methyl-ende weiter voneinander entfernt sind. Die anziehenden Dispersionskräfte von Alkylketten reagieren aber sehr empfindlich auf eine Abstandsänderung: So beträgt die Dispersionskraft zwischen den fünfzehn CH_2 -Gruppen zweier Palmitinsäureketten 7 kcal mol^{-1} , wenn die Achsen der beiden Ketten $4.8 \text{ \AA}$ voneinander entfernt sind, fällt aber auf 1 kcal mol^{-1} , wenn sich ihr Abstand auf $7 \text{ \AA}$ vergrößert (30). Die Änderung der Aktivierungsenergie für den Defektstelleneinbau in die Lipiddoppelschicht scheint also mit der Vorumwandlungstemperatur T_V assoziiert zu sein.

Die periodische Wellung der Zwischenphase zeigt sich in Elektronenmikroskopaufnahmen als Riffelung der Membranoberfläche, die in gestreiften Domänen strukturiert ist (80).

Der Lipiddispersion zugesetzte Fremdmoleküle beeinflussen die Phasenumwandlungen in Abhängigkeit von ihrer Konzentration. So ergibt eine Addition geringer Mengen von 1,6-Diphenylhexatrien-(1,3,5) (DPH), eines Indikators zur fluoreszenzspektrometrischen Analyse der Lipidphasen, zu DMPC, DPPC oder DSPC und die differentialkalorimetrische Vermessung der DPH-dotierten Dispersionen eine Absenkung der Hauptumwandlungstemperaturen um ca. 0.5°C gegenüber den DPH-freien Lipiden, während die Vorumwandlung um $1 - 2^\circ\text{C}$ erniedrigt wird (92). Durch bestimmte Konzentrationen von Anästhetika (62),

Gramicidin (83) und einer Reihe weiterer Substanzen in den Lipiddispersionen kann die Vorumwandlung ganz aufgehoben werden, was aber nichts anderes heißt, als daß die Lipidphasenumwandlung bei konstanter Temperatur chemisch getriggert werden kann. Der Zwischenphase, welche Charakteristika sowohl des Gel- wie des fluid-kristallinen Zustandes aufweist, scheint dabei eine zentrale Rolle zuzukommen.

3.3. Die Subumwandlung

Die Kurve A der Abbildung 13 (S. 75) zeigt für das thermotrope Phasenverhalten einer multilamellaren Dispersion von Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) neben Haupt- und Vorumwandlung mit den charakteristischen Temperaturen T_H und T_V im differentialkalorimetrischen Phasenprofil noch ein drittes Enthalpiemaximum bei der Temperatur T_S (88).

Dadurch wird der kristalline Zustand noch einmal unterteilt in die Gelphase für Temperaturen zwischen T_V und T_S und in die Subgelphase für kleinere Temperaturen als T_S ; daher wird der bei der Temperatur T_S eintretende dritte Phasenübergang auch als Subumwandlung bezeichnet.

Diese Tieftemperaturphase wurde nachgewiesen bei hydratisierten Doppelschichten aus identisch disubstituierten Phosphatidylcholinen, deren Fettsäureketten 16 (DPPC), 17 oder 18 (DSPC) Kohlenstoffatome lang sind. Die Umwandlungstemperatur T_S zur Subgelphase steigt dabei mit zuneh-

mender Länge der Acylketten, während die Umwandlungsenthalpie ΔH_S kleiner wird (88). Die Subumwandlung zeigt ein eigentümliches Temperaturverhalten, d. h. sie ist abhängig von der thermischen Vorbehandlung der Probe. So tritt sie in DPPC-Dispersionen nicht auf, wenn die Probe vorher eine Mindestzeit unter 6°C abgekühlt wurde; kühlt man die Dispersion aber einige Tage auf 0 bis 2°C , so kann die Temperatur auch über 6°C erhöht werden, muß aber unter 12°C bleiben, damit die Subumwandlung vorhanden bleibt (96). Die Kurve A (Abb. 13, S. 75) wurde mit einer Probe erhalten, die 3.5 Tage auf 0°C abgekühlt wurde. Kühlt man die gleiche Probe, nach dem Erhitzen auf 42°C , im Kalorimeter drei Stunden lang bei 1°C und erhitzt wieder, so ergibt sich die Kurve B, d. h. die Subumwandlung ist verschwunden, ohne daß die höherliegenden Übergänge erkennbar beeinflußt werden. Das Auftreten und die Lage der Subumwandlung ist also eine Funktion der Dauer und der Intensität des Kühlvorganges vor der Messung. Außerdem ändern sich die charakteristischen Parameter der Subumwandlung, Temperatur T_S und Enthalpie ΔH_S , auch noch mit der Geschwindigkeit der Messung. Eine Erklärung dieser Phänomene liefert die Geschwindigkeit der Umwandlung: Während die Hauptumwandlung schnell erfolgt (97) und die Vorumwandlung innerhalb von Minuten abläuft (92), ist die Subumwandlung extrem langsam; sie hat eine Halbwertszeit in der Größenordnung von Tagen. Diese lange Halbwertszeit ist auch der Grund für das Auftreten einer ausgeprägten Hysterese bei der Subumwandlung, d. h.

die Temperaturen für Beginn und Ende des Subüberganges, die beim Aufheizen der Probe erhalten werden, unterscheiden sich von den entsprechenden Temperaturen beim Abkühlen. Dies trifft auch schon für die Vorumwandlung zu, wenn auch in weit geringerem Ausmaß. Die extrem langsame Geschwindigkeit des Überganges in die Subgelphase spricht für einen sehr viel kleineren Grad an Kooperativität, als er für die beiden anderen Umwandlungen zutrifft. Der kalorimetrisch ermittelte Wert T_S für DPPC der Bildung der Subgelphase liegt bei ca. 18°C , der aus dem gemessenen Wert durch Extrapolation auf eine unendlich lange Abkühlzeit erhalten wird (88).

Dilatometrisch hingegen - d. h. Bestimmung der Volumenzunahme der Dispersion, eine sehr viel langsamer ablaufende Meßmethode - ergibt sich ein T_S -Wert von ca. 13°C , der aber trotz der langen Meßdauer von 12 Tagen nicht reversibel ist, weil die Subgelformation beim Abkühlen bis 6°C nicht wieder erscheint (96). Diese Unterkühlung der Gelphase hängt zusammen mit der Keimbildung von Subgelpartikeln und ihrer verzögerten Aggregation zu größeren Subgel-domänen. Beim Abkühlen unter die Temperatur T_S der Subumwandlung bilden sich spontan Keime der Subgelphase; sind sie größer als eine bestimmte kritische Größe, so wachsen sie weiter; sind sie aber kleiner, so konvertieren sie, wegen ihrer relativ größeren Oberflächenenergie, wieder in die Gelphase, auch wenn diese bei der herrschenden Temperatur thermodynamisch instabiler ist als der Subgelzustand. Erst wenn genügend große Domänen beider Phasen vor-

handen sind, wird das Wachstum der Subgelphase schneller als die Keimrückbildung zur Gelphase.

Über die molekularen Vorgänge in der Lipiddoppelschicht bei der Subgelformation ist bisher nichts Näheres bekannt.

In Tabelle 9 sind die relevanten Umwandlungsparameter aller drei Phasenübergänge für Dipalmitoyllecithin vergleichend zusammengefaßt.

	Sub-	Vor-	Hauptumwandlung
$T (^{\circ}\text{C})$	13-13,5	34	41.4
$\Delta T_{1/2} (^{\circ}\text{C})$	1.0	2	0.25
$\Delta H (\text{kcal mol}^{-1})$	2.6 ± 0.4	1.0 ± 0.2	8.4 ± 0.3
$\Delta V (10^{-3} \text{ ml g}^{-1})$	9.0 ± 0.5	3.3 ± 0.5	35 ± 1
$\Delta U_{\text{vdW}} (\text{kcal mol}^{-1})$	1.5-1.8	0.5-0.6	5.5

Tab. 9: Phasenumwandlungsparameter von DPPC (96).
(Legende s. Text).

Aus den Werten der Tabelle ist zu ersehen, daß die mit der Subumwandlung verbundene Übergangsbreite $\Delta T_{S, 1/2}$ kleiner ist als für die Vorumwandlung, während Umwandlungsenthalpie ΔH_S , Volumenzunahme ΔV_S und van-der-Waals-Anteil $\Delta U_{S, \text{vdW}}$ der Enthalpie ungefähr dreimal so groß sind, aber deutlich kleiner als die entsprechenden Werte der Hauptumwandlung. Der Term ΔU_S , der die Änderung der Dispersionskraft am jeweiligen Übergangspunkt angibt, ist dabei mit der Annahme berechnet, daß die gesamte, bei T_S

gemessene Volumenzunahme der Doppelschicht gegen die hydrophoben van-der-Waals-Dispersionskräfte im Bereich der Kohlenwasserstoffketten erfolgt. Man könnte vermuten, daß die bei T_S auftretende Volumenexpansion durch eine gegenseitige vertikale Verschiebung benachbarter Fettsäureketten, etwa um die Länge einer CH_2 -Gruppe, zustandekommt. Dieser Vorgang hätte eine geringe Kooperativität und würde eine Änderung der van-der-Waals-Wechselwirkung hervorrufen, bleibt aber bis jetzt nur eine Spekulation.

Die bisher erwähnten drei Umwandlungen finden alle in (multi-) lamellaren Phasen statt. Aber wie es am unteren Ende der Temperaturskala den Übergang von der kristallinen Gel- in die ebenfalls kristalline Subgelphase gibt, so existiert am oberen Ende der Temperaturskala noch eine weitere Umwandlung, welche die flüssig-kristalline lamellare in die fluide hexagonale Phase überführt (98). Sie wurde gefunden bei wässrigen Dispersionen von Diacyl- und Dialkylphosphatidylethanolaminen und ist in ihren Eigenschaften invers zur lamellaren Hauptumwandlung. Während die Umwandlungstemperatur beim Gel-fluid-Übergang mit der Länge der Fettsäureketten der Lipide zunimmt, wird sie beim Wechsel von der fluiden-lamellaren zur inversen hexagonalen Phase kleiner. Derselbe Antagonismus zeigt sich auch in Bezug auf den Wassergehalt oder die Anwesenheit von Ionen in der Doppelschicht. Das gesamte Phasenverhalten in Abhängigkeit von der Temperatur zeigt also, schon für ein einzelnes Lipid, ein recht komplexes Bild.

4. Experimentelle Meßmethoden zum Nachweis der
Lipidphasen

Es existiert eine ganze Reihe verschiedener physikalischer Verfahren, womit das thermotrope Phasenverhalten künstlicher Lipiddispersionen sowie natürlicher Membranlipide und ganzer Zellen demonstriert werden kann.

Am Überzeugendsten sind dabei die Methoden, welche weder eine Strukturveränderung der Lipide, etwa durch den Einbau eines Markermoleküls, noch eine Störung der Lipiddoppelschicht erforderlich machen. Solche, nicht in die molekulare Ordnung eingreifende Detektionsverfahren sind Infrarot- (99) und Ramanspektroskopie (75, 91, 100), Kalorimetrie (9, 31, 33, 39, 49, 62, 88, 89, 98, 101, 102), Lichtstreuung (103), Dilatometrie (96, 104), Elektronenmikroskopie (29, 80), Neutronen- (36, 105), Elektronen- (106) und Röntgenbeugung (34, 41b, 65, 107).

Ebenso störungsfrei arbeitet die kernmagnetische Resonanzspektroskopie, welche die im Lipid vorhandenen Kerne ^1H , ^{13}C und ^{31}P verwendet (32, 35, 56, 79, 108 - 113). Mit ihr, eventuell unter Einführung von ^2H oder ^{19}F ins Lipidmolekül, sind Aussagen über Konformation, Struktur, Dynamik und Phasenzustand der Doppelschicht zu erhalten.

Bei Temperaturen oberhalb der Hauptumwandlungstemperatur zeigen sich scharfe Banden der entsprechenden Kerne, während sie darunter sehr breit werden, ähnlich einem Feststoffspektrum, oder zur Gänze verschwinden, was seinen

Grund in der eingeschränkten beziehungsweise aufgehobenen Beweglichkeit der Fettsäureketten hat.

Auch die Elektronenspinresonanz (51, 67, 114 - 118) wird zum Nachweis der Lipidphasenzustände verwendet. Sie benötigt aber im Lipidmolekül ein stabiles freies Radikal als Spinlabel, wie z. B. 3-Oxi-4,4-dimethyloxazolidin, das kovalent gebunden sein muß. Dadurch ergibt sich eine veränderte Struktur im spinmarkierten Lipid im Vergleich zum unmarkierten, was ohne Zweifel die Kooperativität und damit die Phasenumwandlungen verfälschend beeinflusst.

Von Vorteil hingegen ist die genaue Lokalisierbarkeit des kovalent gebundenen Radikals; damit werden exakte Angaben über den Zustand der Nachbarschaft der Sonde an einem definierten Ort möglich. So kann mit dieser Methode unter anderem der (unterschiedliche) Ordnungsgrad der Methylengruppen entlang einer Acylkette festgestellt werden.

Nicht kovalent gebunden sein müssen Radikale wie Nitroxyl-cholestanderivate oder Tetramethylpiperidin-1-oxyl (Tempo), was zwar die direkte Störung vermindert, aber auch die Ortbarkeit. Beim Erwärmen oder Abkühlen einer Lipiddispersion im ESR-Spektrometer ändert sich das beobachtete Signal in Abhängigkeit von der Temperatur, d. h. vom Phasenzustand des Lipids, weil sich die Spinsonden in der fluiden Phase besser lösen als im kristallinen Gelzustand.

Ähnlich wie die Elektronenspinresonanz kann auch die Fluoreszenzspektroskopie (7, 92, 93, 119 - 130) zur Phasendetektion benutzt werden: Entweder wird das fluoreszenzfähige

System direkt ans Lipid gebunden, oder als nicht-kovalente Sonde in die Doppelschicht eingebaut. Es wird also in jedem Fall ein zusätzliches "Reportermolekül" benötigt. Das Fluoreszenzlabel spürt den Aggregatzustand seiner Umgebung, wie das ESR-Radikal, und wird spezifisch davon beeinflusst. Die Fluoreszenzeigenschaften der Probe müssen also das Verhalten der Lipidmembran widerspiegeln, während ihr Einbau ins untersuchte System keine signifikante Störung verursachen darf.

III. Spezieller Teil

1. Fluoreszenzmessungen an Modellmembranen

1.1. Fluoreszenzspektroskopische Grundlagen (131 - 134)

Ein Chromophor ist eine Einheit aus einem Atom oder einer Gruppe von Atomen, die sichtbares oder ultraviolettes Licht absorbiert. Ein Lumophor wird definiert als Einheit aus einem Atom oder einer Gruppe von Atomen, die sichtbares oder ultraviolettes Licht emittiert. Aromatische Kohlenwasserstoffe und Ketone sind zum Beispiel Lumophore.

Die beobachtete Lumineszenz unterteilt man in Fluoreszenz und Phosphoreszenz. Die möglichen elektronischen Übergänge eines Lumophors, der durch Lichtabsorption aus dem Grundniveau S_0 in ein höheres Singulettniveau S_2 angeregt wurde, zeigt das schematische Diagramm der Abbildung 15 a (S. 95), worin die Emission eines Photons beim Übergang vom elektronisch angeregten Singulettzustand S_1 in den Grundzustand S_0 die Fluoreszenz und die Emission vom Triplettzustand T_1 die Phosphoreszenz bezeichnet. Abbildung 15b veranschaulicht, daß Fluoreszenzbanden im allgemeinen bei höherer spektraler Energie (kürzerer Wellenlänge λ) als Phosphoreszenzbanden auftreten. Außerdem ist der Fluoreszenzzerfall meistens bedeutend schneller als der Phosphoreszenzzerfall.

Nach der Lichtabsorption geht der Lumophor zuerst (Abb. 15a) in weniger als 10^{-10} s in den niedrigsten angeregten Zustand

S_1 über. Von hier aus kann er in jedes Rotations- oder Schwingungsniveau des Grundzustandes S_0 gelangen, und zwar entweder durch Fluoreszenzemission F mit der Geschwindigkeitskonstanten k_F oder durch strahlungslose innere Umwandlung (IU; k_I).

Von S_1 aus ist durch Singulett-Triplett-Umwandlung (STU; k_C) auch der Triplettzustand T_1 erreichbar, woraus der Lumophor durch Phosphoreszenz P oder strahlungslos in den Grundzustand gelangt. Je nach Art des Chromophors beträgt die Lebensdauer des ersten angeregten Singulett-niveaus S_1 10^{-10} bis 10^{-7} s. Diese kurze Zeit genügt aber für physikalische und chemische Wechselwirkungen wie Energieübertragung, Rotations- oder Schwingungsanregung, Veränderung der Solvathülle und Protonenaustausch oder Komplexbildung. Die vom S_1 -Niveau ausgehenden Prozesse determinieren also das Fluoreszenzspektrum, denn von ihnen hängen Lebensdauer, Quantenausbeute und Polarisierung der Fluoreszenz ab.

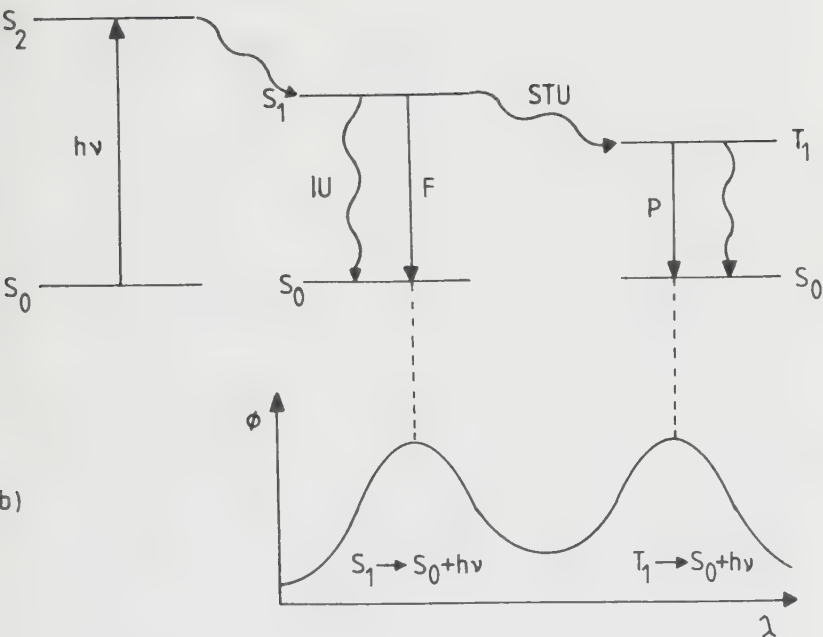


Abb. 15: Energieniveaus und Übergänge eines Lumophors
(Legende s. Text).

Das Fluoreszenzspektrum gibt die Intensität der Fluoreszenz als Funktion der Wellenlänge an (Abb. 15b: $S_1 \rightarrow S_0 + h\nu$). Die Fluoreszenzausbeute ϕ_F bezeichnet den Teil der angeregten Lumophore, der fluoresziert. Sie ist gegeben durch die kinetischen Größen der Gleichung 1 (S. 96), in der k_F , k_I und k_C die Geschwindigkeitskonstanten der beschriebenen möglichen elektronischen Übergänge aus dem angeregten Sin-

gulettzniveau S_1 heraus bezeichnen. Die Abnahme der Fluoreszenzintensität nach einer Anregung definiert die Gleichung 2, in der τ die Lebensdauer der Fluoreszenz bedeutet. τ ist also die Zeit, während der sich die Intensität vom Anfangswert F_0 auf F_0/e verkleinert. Die Fluoreszenzquantenausbeute ϕ_F ist der Lebensdauer τ proportional, mit der Geschwindigkeitskonstanten k_F für die Fluoreszenzemission als Proportionalitätskonstante (Gleichung 3). Die Zerfallskonstante, das ist die reziproke Lebensdauer, der Gleichung 4 ergibt sich durch Einsetzen von der Gleichung 3 in Gleichung 1.

Damit ein physikalischer oder chemischer Prozeß mit den Strahlungsvorgängen konkurrieren kann, muß er schneller als diese verlaufen, d. h. seine Geschwindigkeitskonstante k muß größer sein als die Zerfallskonstante $1/\tau$ des entsprechenden angeregten Niveaus.

$$\phi_F = k_F (k_F + k_I + k_C)^{-1} \quad (1)$$

$$F(t) = F_0 e^{-t/\tau} \quad (2)$$

$$\phi_F = k_F \tau \quad (3)$$

$$1/\tau = k_F + k_I + k_C \quad (4)$$

In Lösung fluoreszieren die meisten Arene, da sie im allgemeinen niedrig liegende π^* -Singulettzustände mit großen Absorptionskoeffizienten ($\epsilon_{\max} \approx 10^4$) aufweisen und daher π, π^* -Übergänge bevorzugen. Organische Moleküle mit anregbaren nichtbindenden Elektronen benötigen gewöhnlich

weniger Energie für den n, π^* -Übergang als für die π, π^* -Anregung. Die n, π^* -Übergänge haben kleinere Absorptionskoeffizienten ($\epsilon_{\max} \approx 10^2$), sind daher weniger intensiv und leben im Durchschnitt länger als π, π^* -Übergänge, d. h. die Geschwindigkeitskonstante k_I ist für den Übergang aus einem n, π^* -Zustand größer als den Übergang aus einem π, π^* -Zustand. Daher ergeben sich für stark fluoreszierende Moleküle folgende allgemeine Anforderungen: Zum einen muß die längstwellige Absorption intensiv sein ($\epsilon_{\max}$ ist groß), zum anderen soll das Fluoreszenzspektrum (Übergang $S_1 \longrightarrow S_0$) angenähert ein Spiegelbild des Absorptionsspektrums ($S_0 \longrightarrow S_1$) sein.

Ferner darf der Lumophor keine funktionellen Gruppen oder Teilstrukturen enthalten, welche strahlungslose Übergänge (k_I, k_C) induzieren. Neben der Struktur des Chromophors spielt auch seine Umgebung eine wichtige Rolle; seine Fluoreszenzeigenschaften sind stark abhängig von der Art des Lösungsmittels, vom pH-Wert, von der Temperatur und von sonstigen physikalischen und chemischen Variablen.

1.2. Der Fluorophor als Phasenmonitor

Man bezeichnet ein Molekül oder eine Gruppe von Atomen, deren lumineszierende Eigenschaften zur Erforschung von Struktur und Dynamik von z. B. Vesikeln von Lipiddispersionen dienen, als lumineszierende, d. h. fluoreszierende

oder phosphoreszierende Sonden.

Ihr Gebrauch setzt voraus, daß sich bei Zugabe zum Testsystem eine ihrer Eigenschaften meßbar ändert. Allgemein erwartet man, daß die Parameter einer Sonde, welche die Lumineszenz bestimmen, sehr empfindlich auf Veränderungen in der molekularen Umgebung der Sonde reagieren. Damit wird auch die Lumineszenz der Sonde meßbar beeinflusst, und jede der experimentell erfaßbaren Lumineszenzeigenschaften ist dann für eine bestimmte molekulare Umgebung der Sonde charakteristisch. Die Emission eines Lumophors ermöglicht die Messung mehrerer quantitativer Parameter wie Emissions- und Absorptionsspektrum, Lumineszenzlebensdauer und -polarisation sowie Energietransfer auf einen zweiten Lumophor.

Wichtig in diesem Zusammenhang sind Löschung, d. h. Verkleinerung der Lumineszenzintensität oder Vergrößerung der Zerfallsgeschwindigkeit der Lumineszenz in Abhängigkeit von zugegebenen Reaktanden, oder allgemein von den Änderungen der molekularen Umgebung, beziehungsweise ihre Umkehrung, die Sensibilisierung, d. h. Vergrößerung der Lumineszenzintensität oder Verkleinerung der Zerfallsgeschwindigkeit der Lumineszenz in Abhängigkeit von zugegebenen Reaktanden, oder allgemein in Abhängigkeit von einer veränderten molekularen Umgebung.

Bei Bestrahlung eines Moleküls mit Licht geeigneter Wellenlänge wird das oberste angeregte Niveau so schnell erreicht, daß die einzigen, primär im Molekül auftretenden Änderungen nur Elektronenverschiebungen sind. Dadurch kann

das Molekül eine andere Ladungsverteilung annehmen als im Grundzustand, was eine Polarisationsänderung der den Lumophor umgebenden Solvensmoleküle hervorruft (Franck-Condon-Prinzip). Im durch Energieabsorption eingenommenen angeregten Franck-Condon-Zustand sind verschiedene Prozesse möglich, ehe durch Lichtemission die Desaktivierung eintritt:

- a) Die den angeregten Zustand solvatisierenden Moleküle haben Zeit, sich im jetzt - wegen der veränderten Elektronenverteilung - stabileren angeregten Gleichgewichtszustand anzuordnen. Die Wechselwirkung zwischen angeregtem Zustand und Solvensmolekülen hängt ab von der Größenordnung der durch die Anregung induzierten Dipolmomentsänderung im Substrat sowie von Polarisierbarkeit und Polarität der Solvathülle. Deshalb reflektiert die Lage des Emissionsmaximums der Fluoreszenz die Polarität der Umgebung der Sonde, besonders wenn sich durch die Anregung das Dipolmoment beträchtlich ändert.
- b) Eine Konsequenz der im angeregten Zustand geänderten Elektronenanordnung kann eine diesem Zustand angepaßte Geometrie des Substrates sein. Ist das der Fall, dann ergibt sich für den angeregten Zustand ein Profil der potentiellen Energie, das von dem des Grundzustandes deutlich verschieden ist. Als Folge ist das Absorptionsspektrum erheblich vom Emissions- oder Fluoreszenzspektrum separiert, anders als bei a), wo die Molekülgeometrien für den Grund- und den angeregten Zustand sehr ähnlich sind. Diese Separation

von Absorptions- und Fluoreszenzspektrum führt zu einer erniedrigten Fluoreszenzquantenausbeute. Wird nun eine Lumophorsonde, die im elektronisch angeregten Zustand eine vom Grundzustand verschiedene Struktur bevorzugen würde, von ihrer Umgebung so stark in ihrer Lage fixiert, daß sie das nicht kann, dann liegt wieder der Fall a) vor - die Quantenausbeute wächst beziehungsweise die Fluoreszenzintensität wird vergrößert durch den Einbau der Sonde in die sie eng begrenzende Matrix.

Lumophore dieser Kategorie können also zur Erforschung ihrer molekularen Umgebung verwendet werden. Man erhält durch die emittierten Photonen Informationen über die lokale Struktur des Organismus in der Umgebung der Sonde zum Zeitpunkt der Emission. Dadurch ist die Fluoreszenzmarkierung eine nützliche Methode zum Studium von Struktur, Dynamik, Konformationsverhalten, Viskositäts- und Phasenzustandsänderungen von natürlichen Membranen wie auch künstlichen Lipiddoppelschichten.

1.3. Ist die Lipidphasenumwandlung an der Pheromonrezeption beteiligt?

Eine wichtige Eigenschaft, welche den physikalischen Zustand biologischer Membranen bestimmt, ist die große Vielfalt individueller Lipide, die in unterschiedlicher Menge in der Gesamtlipidzusammensetzung von Membranen auftreten.

Man könnte vermuten, daß die Natur dadurch optimale Bedingungen für die Funktion hochspezialisierter Proteinsysteme in den Membranen der verschiedenen Zellen und Organellen geschaffen hat. Die gegenwärtige Membranforschung ist aber von einem Beweis dieser Hypothese noch weit entfernt. Nichtsdestoweniger wurde jedoch für einige rekonstituierte Membransysteme, die ein integrales Protein in einer Doppelschicht aus einem einzigen oder mehreren Lipiden enthalten, gezeigt, daß konformative Veränderungen im Bereich der Lipidkohlenwasserstoffketten wie auch die Geschwindigkeit ihrer Bewegung, welche den Aggregatzustand der Doppelschicht determiniert, sowohl die Verteilung der Proteine in der Membran wie ihre Funktion beeinflussen.

Große Änderungen dieser Eigenschaften treten bei den meisten Phospholipiden im Temperaturbereich der Phasenumwandlung auf. Ein instruktives Beispiel für die Abhängigkeit der Proteinverteilung vom Lipidphasenzustand wurde für den Einbau von Calciumadenosintriphosphatase in Modellmembranen aus Dimyristoyllecithin gefunden (135): Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, daß die Proteine im Gelzustand aggregiert vorliegen, während sie in der flüssig-kristallinen Phase verteilt sind. Wie sich die Konformation der Kohlenwasserstoffketten der Lipide auf die Funktion von Proteinen auswirkt, wurde bereits 1970 am Zuckertransport durch Membranen von *Escherichia coli* demonstriert, welche mit bestimmten, im Nährmedium angebotenen, Lipiden angereichert sind (45).

In diesem Zusammenhang ist auch denkbar, daß die polaren Lipidkopfgruppen an der Membranoberfläche eine spezielle Hydratstruktur aufbauen können, die von den Protonen für ihre normale Funktion benötigt wird (136). Da bekannt ist, daß Fremdmoleküle wie Antibiotika oder eine ganze Reihe unterschiedlichster Drogen (83) die Phasenumwandlungen von Lipiddoppelschichten und damit die Eigenschaften von Membranen beeinflussen, liegt die Frage nahe, ob dies auch für einer Membran zugesetzte Pheromone gilt.

Pheromone sind chemische Botenstoffe, die von einem Individuum einer Tierart emittiert und von einem anderen derselben Art empfangen werden (137). Diese Art von Kommunikation wird nicht nur bei sehr vielen Insekten gefunden, sondern auch bei Säugetieren, Fischen, Pilzen und Algen.

Je nach der in ihrer chemischen Struktur enthaltenen Information rufen die Pheromone im Empfängerindividuum ein bestimmtes Verhalten hervor, z. B. eine Aggregation, eine Spurfolge, ein Alarm-, Flucht- oder Sexualgebaren.

Pheromone wirken einzeln oder im Gemisch mit ähnlichen Substanzen, wobei nur ein bestimmtes Mischungsverhältnis der Komponenten das optimale Verhalten auslöst.

Die Pheromonmoleküle, die z. B. auf die Antenne eines Insekts treffen, werden an der Oberfläche adsorbiert und diffundieren schnell durch Poren bis zur Membran des Sinneszellendentrüten. Dort treten sie mit der Rezeptorregion in Wechselwirkung und induzieren eine Leitfähigkeitsänderung der Zellmembran und damit eine Veränderung der Potentialdif-

ferenz über der Membran, das sogenannte Rezeptorpotential. Dieses ergibt sich durch Öffnen oder Schließen von Ionenkanälen in der Sinneszellenmembran. Das Rezeptorpotential pflanzt sich passiv fort und steuert u. a. die Frequenz der am Zellsoma gebildeten Aktionspotentiale.

Im Primärschritt dieser adsorptiven Wechselwirkung paßt sich das Pheromon dem Rezeptorprotein in einer Serie von Einzelschritten in einer definierten Konformation flexibel an (138). Da zum gesamten Rezeptorbereich neben dem Protein auch seine Lipidumgebung gehört, wirkt sich der physikalische Zustand der Lipidmatrix auf die konformative Beweglichkeit der Proteine und damit auf den gesamten Rezeptionsvorgang aus. Wie bereits erwähnt, sind die Phasenzustände der Lipide abhängig von der Temperatur, aber auch, wie gezeigt wurde, von der Art und Konzentration von in die Lipidmembran inkorporierten Pheromonen bzw. Pheromonanalogen (139). Sollten, wie diskutiert, die Lipide am Rezeptionsmechanismus und damit letztlich an der Öffnung der Ionenkanäle beteiligt sein, so müßten einzelne molekulare Schritte und damit der gesamte Rezeptionsvorgang von der Temperatur abhängen. Die kürzlich gefundene Temperaturabhängigkeit der Elektroantennogramm-Antworten bei Lepidopteren könnte als erster experimenteller Hinweis für die Richtigkeit dieser Annahme angesehen werden (140).

Die chemischen Strukturen der Pheromone zeigen Ähnlichkeiten mit den Fettsäureketten der Phospholipide in Membranen. Daher sollte in dieser Arbeit mit Hilfe der Fluores-

zenzspektroskopie untersucht werden, ob und wie sich Struktur- und Konzentrationsvariationen von Pheromonen und pheromonähnlichen Substanzen auf das Phasenverhalten von Membranen auswirken, insbesondere auf die Vorumwandlung von Modellmembranen.

2. Verwendete Materialien und Meßverfahren

2.1. Die Lipidmatrix

Das Experiment mit der biologischen, aus einem Tier extrahierten Membran und dem zugehörigen Pheromon direkt durchzuführen scheitert bisher daran, daß es nicht möglich ist, eine intakte natürliche Membran präparativ zu isolieren.

Daher muß als Modellsystem eine künstliche und deswegen leicht darstellbare Membran verwendet werden, dessen einfachste Variante nur ein einziges Lipid enthält. Um das Verhalten der Vorumwandlung studieren zu können, wurden Lecithine gewählt, nämlich das vollständig gesättigte synthetische L- β,γ -dimyristoyl- α -lecithin (DML: Molekulargewicht 677,95; Reinheitsgrad 99%; Schmelzpunkt 235-7°C; synonym ⁽¹⁴¹⁾: 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholin; Fettsäureketten der Länge C₁₄) und seine Homologen Dipalmitoyllecithin (DPL: C₁₆) und Distearoyllecithin (DSL: C₁₈ - vgl. Abb. 1a, S. 8). Diese Vereinfachung ergibt im Vergleich zur biologischen, sehr viel komplexer aufgebauten Membran den Vorteil der besseren Überschaubarkeit des Experi-

ments sowie der einfacheren Resultatzuordnung, hat aber gleichzeitig den Nachteil, daß damit erhaltene Ergebnisse nur bedingt für biologische Membranen zutreffen können, da Proteine in der künstlichen Modellmembran überhaupt nicht vorhanden sind und die in der Natur verwirklichte komplizierte Gesamtzusammensetzung der Lipide höchstens äußerst grob imitiert werden kann durch ein System aus maximal drei verschiedenen Lecithinen. In der Regel wurde diese Simplifizierung sogar ins Extrem getrieben, d. h. um die Membraneigenschaften in Abhängigkeit von Struktur und Konzentration der zugesetzten Pheromone beziehungsweise pheromonähnlichen Stoffe einfach eruieren zu können, diente nur jeweils eines der erwähnten Lecithine zur Simulation der natürlichen Lipiddoppelschicht. Da aber in solchen einfachsten, künstlichen Membranen die gleichen Phasenumwandlungen auftreten wie in komplexen natürlichen (wie z. B. aus E.coli isolierten (87,101)), scheint diese Vereinfachung für orientierende Untersuchungen vertretbar zu sein.

Die Darstellung der polymeren künstlichen Membran aus dem monomeren kristallinen Lecithin ist relativ einfach:
In $2,5 \cdot 10^{-2}$ m Phosphatpuffer (pH 6.88) wird eine 10^{-3} m Lecithineinwaage ca. drei Minuten auf $70 - 80^{\circ}\text{C}$ erwärmt und durch ebensolanges kräftiges Rütteln auf einer Maschine dispergiert. Eine dreimalige Wiederholung dieser Prozedur ergibt eine wässrige Dispersion, die nur noch schwach trüb ist. Eine weitere Verdünnung auf eine Lecithinkonzentration von $1,25 \cdot 10^{-4}$ m, wie sie, falls nicht anders erwähnt, für die

Fluoreszenzmessungen in einem Küvettenvolumen von 2,5 ml verwendet wurde, macht die Dispersion optisch fast klar. Wichtig ist ein anschließendes mehrtägiges Einfrieren der Dispersion. Nach dem Rütteln und Erwärmen liegt das vorher monomere, in Wasser unlösliche Lecithin als hochpolymere Lipiddoppelschicht oder Modellmembran dispergiert vor, die, je nach Temperatur, die Gel-, Zwischen- oder flüssig-kristalline Phase einnehmen kann. Durch Vergleich der mit dieser Dispersionsmethode und mit der Fluoreszenzmarkierung erhaltenen Hauptphasenumwandlungstemperaturen mit ramanspektroskopischen Untersuchungen ⁽⁹¹⁾ zeigt sich, daß die auf die geschilderte Weise dargestellten Dispersionen große multilamellare Vesikel oder Liposomen enthalten, da sie, anders als die unilamellaren Teilchentypen, scharfe Umwandlungstemperaturen von hoher Kooperativität aufweisen.

2.2. Untersuchte Fluoreszenzindikatoren und Pheromone beziehungsweise Pheromonanaloge

Beim Studium natürlicher und künstlicher Membranen müssen dafür brauchbare Fluoreszenzindikatoren drei Anforderungen erfüllen: Erstens sollte der Ort des Labels in der Membran bekannt sein, damit beobachtete Eigenschaften des Indikators zur Natur seiner spezifischen Umgebung in Beziehung gesetzt werden können. Zweitens darf durch die Inkorporation des Labels keine größere Störung des untersuchten Membran-

systems hervorgerufen werden. Und drittens schließlich müssen die Fluoreszenzeigenschaften des Indikators sein Verhalten in den einzelnen Membranphasen widerspiegeln.

Die Fluoreszenzindikatoren können entweder kovalent oder nicht-kovalent an die Lipidmatrix gebunden sein.

Die kovalente Markierung hat den Vorteil, daß der Ort der Bindung genau bestimmbar ist, z. B. durch chemischen Abbau des markierten Moleküls. Gleichzeitig ist aber ein Nachteil, daß, wenn das Label an einer funktionell wichtigen Stelle sitzt, die biochemischen Eigenschaften des Systems dadurch wesentlich verfälscht werden können.

Umgekehrt ergibt sich für die nicht-kovalente Bindung eines Fluoreszenzindikators an die Lecithindoppelschicht eine schwache Wechselwirkung der beiden Komponenten und dadurch nur eine geringe Störung des untersuchten Systems, zugleich aber ist der Ort der Bindung des Indikators oft nur schwer genau zu bestimmen.

Hier in dieser Arbeit erfolgt die Detektion der Phasenübergänge mit Hilfe der nicht-kovalent in die Lecithinmembran eingebauten Fluoreszenzsonden 8-anilino-1-naphthalin-sulfonsäure (ANS) beziehungsweise N-phenyl-naphthylamin (NPN, vgl. Abb. 16, S. 108). In den allermeisten Fällen wurde NPN verwendet, und zwar, falls nicht anders erwähnt, in einer Konzentration von $1,25 \cdot 10^{-7}$ m, d. h. die Konzentration an Fluoreszenzindikator beträgt ein Promille, bezogen auf das Lecithin (Mol : Mol).

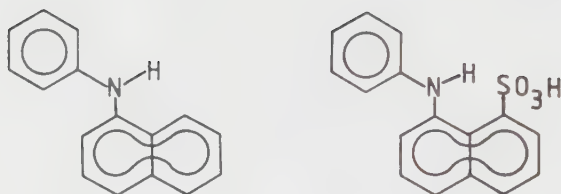


Abb. 16: Fluoreszenzindikatoren NPN (links) und ANS(rechts).

ANS ist ein Amphiphil und daher sowohl wasser- wie lipid-löslich; beim verwendeten pH-Wert von 6,88 dissoziiert das Proton der Sulfonsäuregruppe ab und ANS liegt als Anion ANS^- vor. NPN besitzt keine polare Gruppe und löst sich daher nicht in Wasser. Lösungen von NPN in n-Pentan beziehungsweise von ANS in Phosphatpuffer werden unmittelbar vor der Messung bei einer um ca. 15°C über der Hauptumwandlung des verwendeten Lecithins liegenden Temperatur zur Dispersion zugespritzt. Bei der gleichen Temperatur (bei der auch die fertige Dispersion vor jeder Messung für ca. 15 Minuten inkubiert wird) und gleichfalls als Lösung in n-Pentan wurden schließlich als Pheromonanalogue in der benötigten Konzentration noch die folgenden langkettigen n-Alkohole in die Lecithin-Fluoreszenzindikator-Dispersion eingebracht: Octanol bis Hexadecanol sowie Octadecanol und Eicosanol, also die Alkohole der Kettenlängen C_8 bis C_{16} sowie C_{18} und C_{20} . Als Pheromone wurden unverzweigte Alkohole, Acetate und Aldehyde der Längen

C₁₄, C₁₆ und C₁₈ verwendet, und zwar im einzelnen:

C₁₄-Gruppe: Z- und E-9-Tetradecenol; Z-9,Z-11-Tetradecadienol; E-9-Tetradecenol; Z-9-Tetradecenylacetat

C₁₆-Gruppe: Z- und E-11-Hexadecenol; Z-11,Z-13-Hexadecadienol.

C₁₈-Gruppe: Z-13-Octadecenol; Z-13-Octadecenol; Z-13-Octadecenylacetat.

Die allgemeine Struktur der zugesetzten Komponenten zeigen die Formeln der Abbildung 17a für die einfach und 17b für die doppelt ungesättigten Pheromone.



Abb. 17: Strukturen der verwendeten Pheromone.

Nach der Applikation des Pheromons bzw. des n-Alkanols wird die heiße Mischung noch einmal ca. drei Minuten auf dem Rüttler geschüttelt. Dabei erfolgt offenbar eine Inkorporation der Fremdkomponenten in die Struktur der Membran, denn die kompletten Dispersionen aus Lecithin, Fluoreszenzindikator und Pheromon bzw. n-Alkohol sind bei Raumtemperatur einige Stunden bis Tage stabil, ehe ein Niederschlag ausfällt. Die Indikator- und Pheromonlösungen wurden jeden Tag frisch vorbereitet sowie kühl und dunkel aufbewahrt.

N-phenyl-naphthylamin, die gesättigten Alkohole und auch die Pheromone sind in Wasser beziehungsweise Phosphatpuffer so gut wie unlöslich. Daher wurde n-Pentan als Dispersionsvermittler benutzt. Das Zuspitzen der wasserunlöslichen Substanzen in Pentanlösung zur Lecithindispersion mit Mikroliterspritzen gestattet eine genauere Dosierung der Komponenten als das Einwiegen, da die erforderlichen Mengen im Mikrogrammbereich liegen. Mit dieser n-Pentan-Methode ist also die Dotierung der zu untersuchenden Lipiddispersion einer Modellmembran in Wasser mit wasserunlöslichen Stoffen möglich: n-Pentan siedet bei 36°C ; im Moment des Zuspitzens bei 70°C (DSL), 55°C (DPL) beziehungsweise 42°C (DML) verdampft es aus der jeweiligen Lecithindispersion.

Ob sich während der kurzen Kontaktzeit genügend gasförmiges Pentan in der wässrigen Dispersion löst, daß dadurch die Umwandlungstemperaturen der verschiedenen Membranphasen beeinflußt werden, wurde wiederholt mit unterschiedlichen Mengen an n-Pentan durch folgende Prozedur geprüft:

Zuerst wurde die Änderung der Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit von der Temperatur einer Lecithindispersion registriert, die nur den Fluoreszenzindikator, und zwar das im wässrigen Puffer gelöste ANS enthielt, also eine sogenannte "Leerkurve" aufgenommen. Damit verglichen wurde die Kurve einer Dispersion, die neben der gleichen Indikator-konzentration noch mit einem langkettigen Alkohol beziehungsweise einem Pheromon, gelöst in n-Pentan, versetzt war. Zeigten diese beiden Experimente Unterschiede in den Phasen-

Übergangstemperaturen und/oder in der Form der Fluoreszenzkurven, so mußte bewiesen werden, daß die beobachteten Effekte tatsächlich vom zusätzlich zugespritzten Alkohol beziehungsweise Pheromon herrührten, und nicht vom n-Pentan verursacht waren. Das geschah durch Aufnahme einer dritten Kurve, einer Kontrollkurve, deren Dispersion die gleiche Menge reines n-Pentan, also ohne Alkohol oder Pheromon, enthielt, und durch Vergleich mit den beiden ersten Kurven. Sind nun Temperaturwerte und Form der Kontrollkurve - im Rahmen der Meßgenauigkeit - mit der Leerkurve identisch, dann müssen bei der zweiten Kurve auftretende Unterschiede vom in die Struktur der Modellmembran integrierten langkettigen Alkohol beziehungsweise vom Pheromon herrühren. Das trifft zu, wenn n-Pentan als Dispersionsvermittler verwendet wird, nicht jedoch für Methanol oder andere organische Lösungsmittel von höherem Siedepunkt.

Die nicht-kovalente Bindung der Fluoreszenzindikatoren NPN und ANS an die Lecithindoppelschicht sowie ihre Lokalisierung und Orientierung in der Membran wird durch folgende experimentelle Beobachtungen ⁽¹⁴²⁾ erklärt:

Der Einbau von NPN oder ANS in künstliche oder natürliche Membranen hat erstens ein erhebliches Ansteigen der Fluoreszenzintensität und zweitens eine Blauverschiebung (zu kürzeren Wellen) der Wellenlänge des Emissionsmaximums zur Folge. Eine Lösung von ANS in Wasser zeigt ein Emissionsmaximum bei 515 nm, gebunden an eine DML-Dispersion liegt es jedoch bei 480 nm, wobei sich die Fluoreszenzquantenaus-

beute um mindestens den Faktor 10^2 auf $Q(\text{DML}) = 0.16$ vergrößert, verglichen mit der wässrigen Lösung ⁽¹⁴³⁾. Diese Steigerung entspricht dem Übergang von einem Lösungsmittel mit der Dielektrizitätskonstanten $\epsilon = 1$ (H_2O) zu einem Medium mit ϵ ca. 35 (Membran), was etwa reinem Methanol entspricht. Für NPN ergibt sich eine Fluoreszenzquantenausbeute $Q(\text{Membran}) = 0.33$ mit ϵ ca. 10.

Diese Befunde zeigen, daß beide Indikatoren ein empfindliches Maß der Polarität ihrer Umgebung darstellen sowie ferner - aufgrund der unterschiedlichen ϵ -Werte - daß ANS und NPN in unterschiedlichen Bereichen der Membran adsorbiert sein müssen. Das amphiphile ANS-Anion bindet elektrostatisch mit dem Sauerstoff der Sulfonatgruppe in der Region der polaren Membrankopfgruppen an die positiv geladenen Trimethylammoniumreste der Lecithinmoleküle ⁽¹⁴⁴⁾, wodurch der hydrophobe Naphthylanilinoanteil zwischen die ebenfalls hydrophoben Alkylketten der Fettsäuren zu liegen kommt.

Im Gegensatz dazu wird das neutrale und unpolare NPN ganz im Membraninneren adsorbiert ⁽¹⁴⁵⁾. Umorientierungen in den polaren Membranoberflächen beeinflussen daher die Adsorption von ANS und seine Fluoreszenzintensität, während NPN Konformationsänderungen der Fettsäureketten anzeigt.

Die fluoreszenzspektroskopischen Parameter von an DPL gebundenem ANS beziehungsweise NPN sind in Tabelle 10 a) zusammengefaßt ⁽¹³⁰⁾, während 10 b) die Solvensabhängigkeit des Excitations- und Emissionsspektrums von NPN angibt ⁽¹³²⁾.

Indikator	Excitations- maximum (nm)	Emissions- maximum (nm)	Lebens- dauer (ns)
ANS	380	476	9.0
NPN	347	416	7.0

Tab. 10 a): Fluoreszenzeigenschaften von ANS und NPN.

Solvens	Excitations- maximum (nm)	Emissions- maximum (nm)	Quanten- ausbeute
Methanol	340	424	0.22
Benzol	339	395	0.53
Hexan	337	376	0.47

Tab. 10 b): Solvensabhängigkeit von NPN.

Daß sich das NPN-Fluoreszenzspektrum mit dem Lösungsmittel ändert, wird erklärt durch eine Dipolmomentsänderung im angeregten Franck-Condon-Zustand, verglichen mit dem Grundzustand. Hält man in einem Solvensgemisch, in dem NPN gelöst ist, Polarisierbarkeit und Polarität konstant und variiert nur die Viskosität, so ergibt sich eine wachsende Überlappung von Excitations- und Emissionsspektrum bei steigender Viskosität, was einer entsprechend vergrößerten Fluoreszenzquantenausbeute entspricht. Die Molekülgeometrien

des Fluoreszenzindikators im angeregten und im Grundzustand sind also unterschiedlich, und der dadurch vom umgebenden Lipidmedium ausgeübte sterische Zwang zeigt sich in der Änderung der Fluoreszenzintensität. Entsprechendes trifft für ANS zu.

Eine kinetische Untersuchung ⁽¹⁴³⁾ der Bindung von ANS an DML-Doppelschichten ergibt ein detailliertes Bild der Adsorption des Fluoreszenzindikators an der Membran:

Es werden zwei verschiedene unimolekulare Halbwertszeiten gefunden, von denen die eine im Millisekunden- und die andere im Sekundenbereich liegt. Die schnellere Reaktion wird dabei, nach einer anfänglichen, sehr schnellen Adsorption an die polaren Lecithinkopfgruppen, einer Uorientierung des ANS-Moleküls in der Membranoberfläche zugeordnet, während der langsamere Schritt einen Transport des Fluoreszenzindikators durch die Lipiddoppelschicht der Vesikel repräsentiert. Diese Transportreaktion ist sehr temperaturabhängig und zeigt ein Geschwindigkeitsmaximum genau bei der Temperatur der Hauptumwandlung. Die Transportkinetik von ANS ist also sensitiv für den physikalischen Zustand der Lecithinmembran, weshalb sich ANS (wie NPN) zur Phasendetektion eignet.

Die Abbildung 18 zeigt ein zusammenfassendes kinetisches Schema der Lecithinmarkierung mit ANS, wobei F den Fluoreszenzindikator und L die Lecithinmembran symbolisiert.

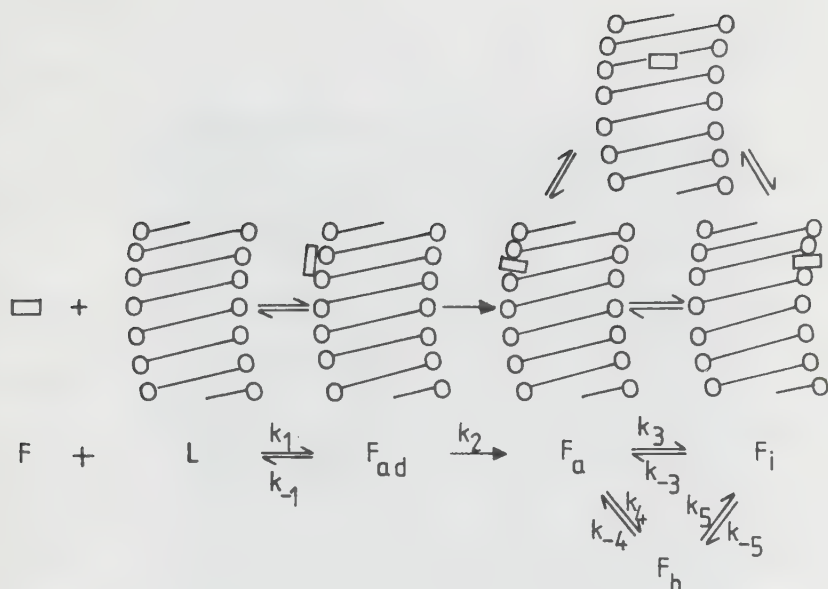


Abb. 18: Schema der ANS-Bindung (Legende s. Text).

Der erste Schritt der ANS-Bindung mit der Geschwindigkeitskonstanten k_1 ist eine schnelle bimolekulare Adsorption von ANS auf der Vesikeloberfläche, während der zweite (k_2 ; $F_{ad} \xrightarrow{k_2} F_a$) eine Umorientierung des Indikators in der polaren Region der äußeren Doppelschichthälfte darstellt. Der Transport des ANS-Moleküls von der äußeren Membranoberfläche (F_a) zur inneren (F_i) der Lipidvesikel kann entweder direkt erfolgen (k_3), oder über eine Zwischenstufe (F_h ; k_4 , k_5), wobei der Fluoreszenzindikator intermediär im hydrophoben

Membraninneren gebunden ist. Die Transportreaktion mit den Geschwindigkeitskonstanten k_3 beziehungsweise k_4 und k_5 tritt dabei nur auf im Temperaturbereich der Phasenhauptumwandlung; bei allen anderen Temperaturen spielt sie keine Rolle. Daher kann man sagen, daß der Transport amphiphiler Moleküle wie ANS vom Phasenzustand der Lipiddoppelschicht reguliert wird.

Wie ANS und NPN sind auch die langkettigen Alkohole, Acetate und Aldehyde, deren phasenmodifizierendes Verhalten hier untersucht werden soll, "Fremdmoleküle" in der Lecithinmembran. Sie sind zwar nicht amphiphil wie ANS, enthalten aber, wie dieses, eine polare funktionelle Gruppe und einen unpolaren Kohlenwasserstoffteil. Daher sollten sie auch analog in der Lipidmatrix orientiert eingebaut sein: Die polare funktionelle Gruppe ist in der ebenfalls polaren Membranoberfläche durch Wasserstoffbrückenbindungen oder Ion-Dipol-Wechselwirkung verankert, während die unpolaren Kohlenwasserstoffketten im hydrophoben Membraninneren parallel zu den Fettsäurealkylresten der Phospholipide verlaufen. Eine entsprechende Anordnung wurde für Decanol in Micellen aus Dodecanoat-Anionen und Decyltrimethylammonium-Kationen gefunden (146,147). Unterschiede in der Eindringtiefe der verwendeten Pheromone und pheromonanalogen Alkohole ins Innere der Lecithinmembran ergeben sich aus ihren Strukturvariablen, also aus der Art der vorhandenen funktionellen Gruppe, aus der Länge des Alkylteils sowie aus Zahl und Konfiguration der im Molekül enthaltenen Doppelbindungen.

Modellanordnungen von Octanol, E-9-Tetradecenal und Z-13-Octadecenylacetat in einer DML-Membran sind in Abbildung 19 gezeigt.

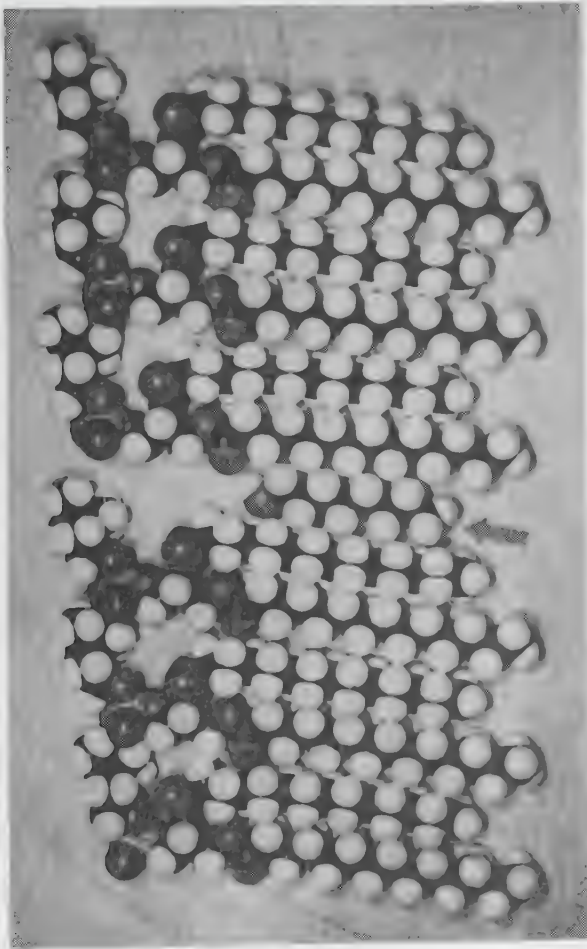


Abb. 19a: Kalottenmodell von Octanol in DML
(Der Pfeil zeigt den Alkohol).

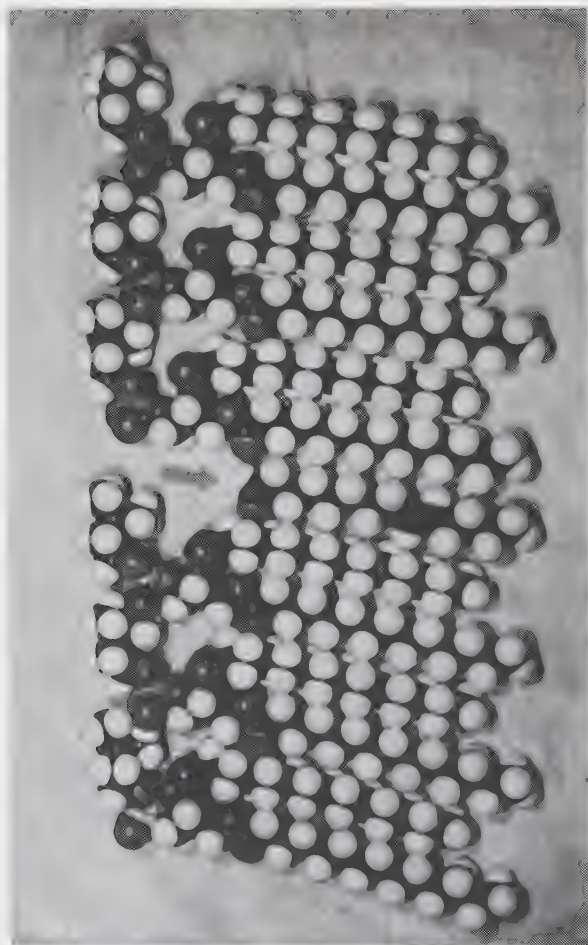


Abb. 19b: Kalottenmodell von E-9-Tetradecenal in DML
(Der Pfeil zeigt den Aldehyd).

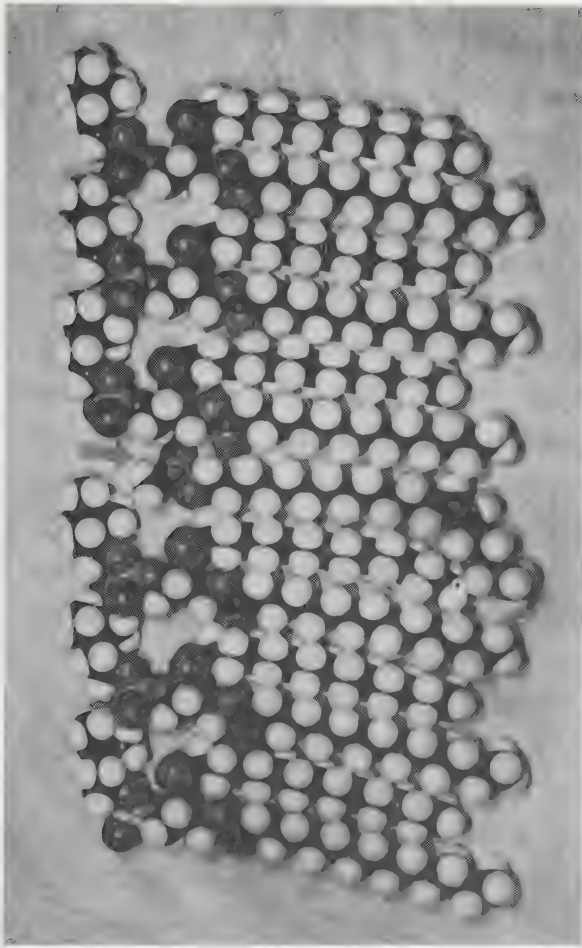


Abb. 19c: Kalottenmodell von Z-13-Octadecenylacetat in DML
(Der Pfeil zeigt das Acetat).

2.3. Signalregistrierung

Für die Messungen wurde ein Fluoreszenz-Spektrophotometer MPF-3 von Perkin-Elmer verwendet. Zur Anregung des Fluoreszenzindikators NPN oder ANS in der Lecithindispersion muß Energie in Form von Licht geeigneter Wellenlänge ins Molekül eingestrahlt werden. Dazu dient eine Xenon-Hochdruckdampflampe, aus deren Gesamtspektrum mit Hilfe eines Monochromators die zur Anregung geeignete Wellenlänge des Absorptions-(Excitations-)maximums herausgefiltert wird. Der elektronisch angeregte Fluorophor emittiert nach allen Richtungen Licht größerer Wellenlängen als die des eingestrahlten. Der Emissionsmonochromator dispergiert das emittierte Fluoreszenzlicht und ist fest auf die Wellenlänge des Emissionsmaximums eingestellt. Die Wellenlängen der maximalen Absorption und Emission werden vor jedem Experiment ermittelt beziehungsweise überprüft. Nach Durchgang durch einen Photomultiplier wird das Emissionslicht in einem Detektor registriert und von einem Schreiber als Intensität der Fluoreszenz bei der aktuellen Temperatur erfaßt. Der Detektor ist dabei im 90° -Winkel zum anregenden Strahl angeordnet. Durch diesen senkrechten Meßaufbau kann das kleine Fluoreszenzsignal leichter über einem konstanten Hintergrundrauschen entdeckt werden als mit dem sonst in der Absorptionsspektroskopie üblichen Verfahren des Vergleichs der transmittierten mit der einfallenden Lichtintensität, was bei der Fluoreszenzspektroskopie auf die Messung einer

geringen Differenz zweier großer Signale hinausliefe.

Die Temperaturregelung besorgt ein linear-programmierter großvolumiger Umwälzthermostat. Grundsätzlich wird jede erstmals zu vermessende Probe in einer Küvette auf eine Temperatur ca. 15 °C über der zu erwartenden Hauptumwandlung aufgeheizt und bei dieser Temperatur etwa 15 Minuten inkubiert; danach werden die erforderlichen Mengen an NPN (oder ANS) und zu untersuchender Substanz in n-Pentan zugespritzt. Nach einem letzten Rütteln auf der Schüttelmaschine wird die dotierte Lecithindispersion mit 30 °C pro Stunde linear abgekühlt bis zu einer Temperatur T_U (U: Umkehr des Temperaturgradienten, vgl. Abb. 20, S.125 und Abb. 21, S.129) deutlich unterhalb der Vorumwandlung (falls vorhanden); dann wird mit der gleichen Geschwindigkeit linear erwärmt, bis die ursprüngliche Starttemperatur wieder erreicht, der Zyklus also geschlossen ist. Die Temperaturregistrierung erfolgt über ein Thermoelement in einer zweiten Quarzküvette im Thermostatierblock des Spektralphotometers. Die im Thermoelement induzierten Spannungsänderungen werden auf einen zum Fluoreszenzschreiber parallel laufenden zweiten Schreiber gegeben und dort synchron aufgezeichnet; außerdem ist optische Kontrolle über ein Digitalthermometer möglich. Insgesamt erfaßt wird also die Änderung der Fluoreszenzintensität auf der Ordinate in willkürlichen Fluoreszenzeinheiten, in Abhängigkeit von der Temperatur auf der Abszisse in °C. Thermoelement, Digitalthermometer und Temperaturschreiber werden von Zeit zu Zeit mit Eiswasser geeicht.

IV. Experimentelle Ergebnisse

Die Fluoreszenzmessungen an Lecithindispersionen von Modellmembranen mit inkorporierten Pheromonen oder pheromonähnlichen Alkoholen ergaben drei wesentlich voneinander verschiedene Typen der Kurvenform der Fluoreszenzintensität als Funktion der Temperatur (siehe Abb. 20, S. 125):

1.) Der Typ HV

ist charakterisiert durch einen stetigen Fluoreszenzanstieg vom Start der Abkühlung an bis zu einem prägnanten Abfall der Fluoreszenz innerhalb von ca. 0,5 bis 3°C; dieser scharf ausgeprägte Wendepunkt der Fluoreszenzkurve repräsentiert die Hauptumwandlung bei der Temperatur T_H . Daran schließt sich wieder ein Abschnitt kontinuierlicher Fluoreszenzänderung an (entweder Zu- oder Abnahme), bis ein zweiter, weniger scharfer Wendepunkt bei der Temperatur T_V der Vorumwandlung auftritt; die Fluoreszenzänderung bei T_V ist kleiner und von größerer Umwandlungsbreite als bei T_H . Bis zur Umkehrtemperatur T_U ergibt sich dann wieder ein stetiger Teil der Fluoreszenzkurve, also kein weiterer Wendepunkt. Die beiden beschriebenen Wendepunkte bei den Temperaturen T_H und T_V entsprechen den beiden endothermen Phasenübergängen in Lecithinmembranen, wie sie auch mit anderen physikalischen Methoden wie z. B. Differentialkalorimetrie oder Elektronenspinresonanz gefunden werden. Die drei stetigen Teilabschnitte der Kurve bezeichnen, von hoher zu niedriger Temperatur, den fluid-kristallinen, den Zwischen- und den Gelzustand

der Doppelschichtmembran (vgl. Abb. 14, S. 83).

Beim Aufheizen der Dispersion, nach der Temperaturumkehr bei T_U , treten die beschriebenen Kurvenmerkmale in umgekehrter Reihenfolge auf. Meist ist die Abkühlkurve zur beim Erwärmen erhaltenen Kurve aber nicht vollständig symmetrisch: Die Temperaturwerte T_H der Hauptumwandlung können um einige Zehntelgrad differieren, während die die Vorumwandlung betreffenden T_V -Werte bis zu einigen Grad Celsius voneinander abweichen können, was seinen Grund vermutlich entweder in der langsameren Kinetik der Vorumwandlung beim Abkühlen ⁽⁹²⁾ oder aber in der Anwesenheit der Pheromone in der Membran und der dadurch bewirkten Veränderung der Kooperativität hat. Allgemein beschreibt der Typ HV also Fluoreszenzkurven, die sowohl Haupt- wie Vorumwandlung in der geschilderten Form enthalten.

2.) Der Typ H

faßt Kurvenformen zusammen, die nur mehr einen Wendepunkt aufweisen, nämlich den der Hauptumwandlung; die Vorumwandlung tritt nicht mehr auf. Die Zwischenphase fehlt also beim hier so genannten Typ H völlig im Vergleich zum Typ HV, und die beiden kontinuierlichen Teilstücke der Fluoreszenzkurve entsprechen der Gelphase bei tiefer und der flüssig-kristallinen Phase bei hoher Temperatur, die im Bereich der Phasenhauptumwandlung direkt ineinander übergehen. Dieser Übergangsbereich ΔT_H ist hier in der Regel deutlich breiter als für Kurven vom Typ HV. Der Typ H soll also Kurven repräsentieren, die nur noch die Hauptumwandlung zei-

gen.

3.) Der Typ I

entspricht dem Typ H im wesentlichen, mit dem einzigen, aber signifikanten Unterschied, daß die Fluoreszenz bei der Temperatur T_H hier größer wird beim Abkühlen der Dispersion, und nicht kleiner wie bei den anderen beiden Typen. Daher rührt auch die Bezeichnung der "inversen Fluoreszenzintensität". Er kommt nur bei Acetaten vor. Im Übrigen sind die Übergänge zwischen den drei unterschiedlichen Kurventypen fließend; welche Form der Fluoreszenzkurve ein spezielles Experiment ergibt, hängt ab von Art und Konzentration des in der Lecithinmembran vorhandenen Pheromons beziehungsweise pheromonähnlichen Alkanols.

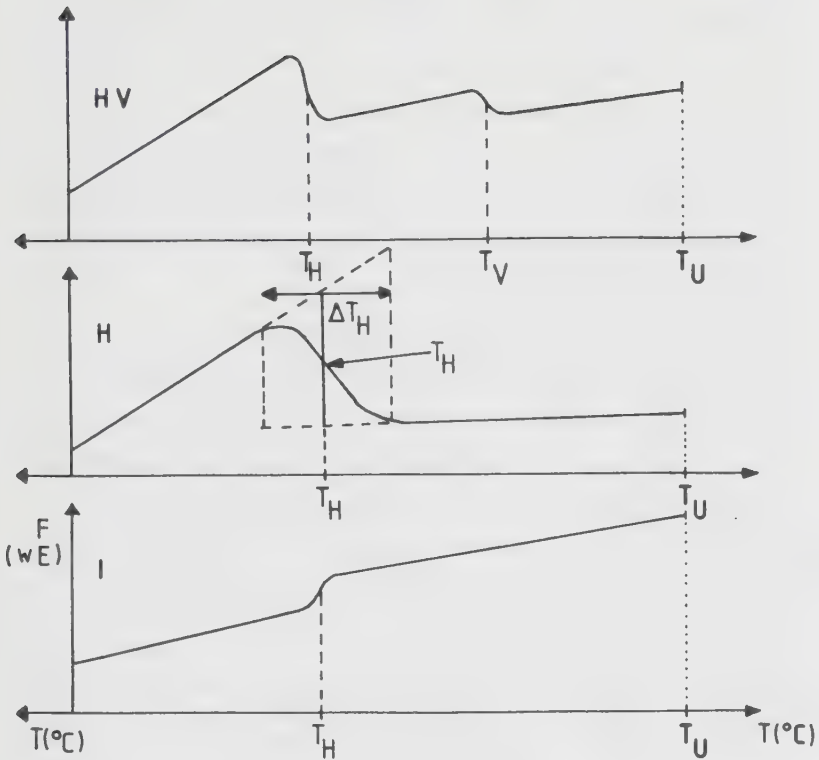


Abb. 20: Schematische Fluoreszenzkurven vom Typ HV, H und I (von oben, vgl. Abb. 21, S. 129).

Exemplarisch an der Kurvenform für den Typ H ist in Abb. 20 die graphische Auswertmethode zur Bestimmung der Phasenumwandlungstemperaturen T_H und T_V sowie der Übergangsbreiten ΔT_H und ΔT_V angegeben: Dabei verlängert man die beiden stetigen Teilstücke der Kurve über den Wendepunkt

hinaus; die Fluoreszenzkurve schneidet die senkrechte Verbindungslinie der zwei Verlängerungen genau in der Mitte und der so erhaltene Schnittpunkt definiert die gesuchte Phasenumwandlungstemperatur T_H oder T_V . Die dazu gehörige Übergangsbreite ΔT_H oder ΔT_V ergibt sich dann als der Temperaturbereich, der durch die zwei Punkte begrenzt ist, an denen die beiden Verlängerungen von der Fluoreszenzkurve abzuweichen beginnen.

4.) Fluoreszenzkurven vom Typ HV ergeben sich für

- a) alle untersuchten Konzentrationen an Fluoreszenzindikatoren (1% bis 5% NPN beziehungsweise 0,5 und 1% ANS) ohne Zusatz einer weiteren Substanz, d. h. alle "Leerkurven" zeigen neben der Haupt- auch die Vorumwandlung;
- b) alle "Leerkurven", deren Dispersion zur Prüfung der Pentan-Methode noch n-Pentan zugespritzt worden war (sogen. Kontrollkurven);
- c) alle verwendeten Alkohole, Aldehyde und Acetate bis zu bestimmten "kritischen Konzentrationen". Diese kritischen Konzentrationen variieren individuell je nach Art des zugefügten Pheromons oder pheromonähnlichen Alkohols, sind aber auch abhängig von Art und Konzentration des Fluoreszenzindikators (vgl. Tab. 11, S. 184). Um die kritischen Konzentrationen untereinander vergleichen zu können, wurde immer der gleiche Indikator in der gleichen Konzentration verwendet. Alle im folgenden aufgeführten Lecithindispersionen enthalten als Fluoreszenzindikator 1% NPN; Abweichungen sind ausdrücklich aufgeführt. Die Indikatorkonzentration wurde so

klein gewählt, damit die dadurch bei der Fluoreszenzmethode prinzipbedingte Störung der Membran möglichst gering bleibt.

Der Kurventyp HV tritt auch auf für Penta-, Hexa- und Octadecanol sowie Eicosanol sowohl in DML- wie DPL-Matrix mit 1% NPN als Fluoreszenzindikator. Diese Dispersionen zeigen die Vorumwandlung bis zur Instabilitätsgrenze, d. h. bis zu so hohen Alkoholkonzentrationen, daß die Membran im Verlauf der Messung instabil wird. Dabei treten in der Küvette sichtbare Partikel auf, die Dispersion flockt aus und bildet einen Niederschlag; dadurch wird die Fluoreszenzkurve so diskontinuierlich, daß eine Auswertung nicht mehr möglich ist. Ferner ist die Vorumwandlung vorhanden für DML-Matrix bis 90% E-11-Hexadecanol und bis 60% Z-13-Octadecenal. Beide Fälle wurden für höhere Konzentrationen nicht untersucht.

5.) Fluoreszenzkurven vom Typ H ergeben sich für alle Konzentrationen der untersuchten Pheromone und pheromonanalogen Alkohole, die größer sind als die "kritische". Mit höheren Konzentrationen als der "kritischen" ist also die Vorumwandlung in der Fluoreszenzkurve nicht mehr sichtbar.

6.) Fluoreszenzkurven vom Typ I ergeben sich für höhere Konzentrationen der beiden Acetate sowohl in DML- wie DPL-Dispersion.

7.) Fluoreszenzkurven vom Typ H weisen meist eine deutlich größere Änderung der Fluoreszenzintensität bei der Temperatur der Hauptumwandlung auf, verglichen mit entsprechenden

Kurven vom Typ HV.

8.) Der Wendepunkt T_H der Phasenhauptumwandlung kann auf der Temperaturskala relativ zur Leerkurve mit 1% NPN unterschiedlich verschoben sein:

- a) zu höherer Temperatur mit Un-, Do-, Tri- und Tetradecanol in DML- und DPL-Membran sowie mit E-9-Tetradecenol und Z-11, Z-13-Hexadecadienol in DML und ferner, geringfügig, mit Penta-, Hexa-, Octadecanol und Eicosanol in DPL-Dispersion.
- b) zu tieferer Temperatur mit allen übrigen Pheromonen und pheromonanalogen Alkoholen (vgl. S.108/9).

9.) Gleiche Konzentrationen verschiedener Pheromone oder Alkanole wirken unterschiedlich auf die künstliche Membran.

Die Abbildung 21 (S. 129) zeigt an konkreten Fluoreszenzkurven exemplarisch die verschiedenen Kurvenformen vom Typ HV, H und I. Die unterschiedliche Verschiebung der Umwandlungstemperaturen T_H und T_V ist direkt aus den Diagrammen ablesbar. T_H und (falls vorhanden) T_V sind in $^{\circ}\text{C}$ angegeben. Die Umkehrtemperatur T_U (vgl. S.122) wird durch einen Pfeil markiert.

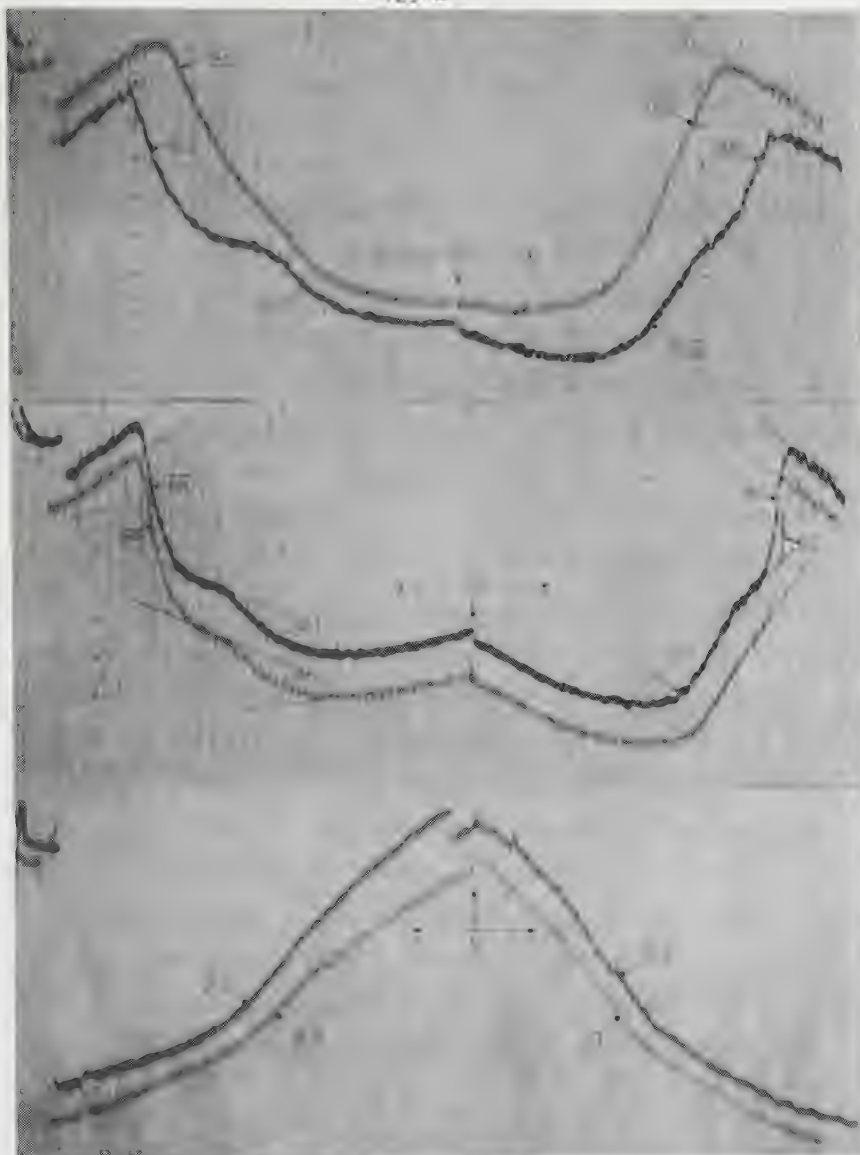


Abb. 21: Die drei experimentellen Kurventypen HV, H und I
(vgl. Abb. 20, S. 125; T_0 : Umkehrtemperatur).

1. Tabellarische Übersicht

Die folgenden Tabellen fassen die erhaltenen Resultate zusammen. Die Lecithinkonzentration beträgt dabei jeweils $1,25 \cdot 10^{-4}$ m und die NPN-Konzentration 1% davon. Die in der ersten Spalte aufgeführte Pheromon- beziehungsweise Alkoholkonzentration variiert und ist in Prozent der Lecithinkonzentration angegeben. Die Wellenlängen des NPN-Absorptions- beziehungsweise Emissionsmaximums sind auf 345 beziehungsweise 415 nm eingestellt. Davon abweichende Maxima (wie bei einigen Acetatkonzentrationen) sind in der entsprechenden Tabelle extra erwähnt. Die Tabellen sind geordnet nach der Art des Lecithins, nach steigender Kettenlänge der Alkohole und Pheromone und bei Pheromonen gleicher Kettenlänge nach der funktionellen Gruppe. Die Konzentrationen innerhalb der einzelnen Tabellen sind nicht geordnet, sondern so wiedergegeben, wie die Experimente durchgeführt wurden. Dadurch ergeben sich Konzentrationsüberschneidungen und oft Mehrfachbestimmungen, welche wegen der Streuung der Meßergebnisse notwendig wurden. Eine Übersicht über die Konzentrationsabhängigkeit der Phasenumwandlungstemperaturen vermitteln die zugehörigen graphischen Darstellungen im nächsten Kapitel. Ferner bedeuten die verwendeten Abkürzungen und Symbole:

T_H : Temperatur der Hauptumwandlung

T_V : Temperatur der Vorumwandlung

ΔT_H : Umwandlungsbreite der Hauptumwandlung

ΔT_V : Umwandlungsbreite der Vorumwandlung

Alle Angaben zu T_H , T_V und ΔT_H , ΔT_V haben die Einheit $^{\circ}\text{C}$.

↓ : Abkühlen; ↑ : Aufheizen der Dispersion

— : T_V beziehungsweise ΔT_V nicht vorhanden

Dach : Wendepunkt der Vorumwandlung nicht ausgeprägt; es tritt nur ein Knick in der Fluoreszenzkurve auf; damit ist die Umwandlungsbreite nicht definiert.

inst.: Dispersion wird während der Messung instabil.

Da die Werte von T_H auch bei identischen Experimenten um einige Zehntelgrad streuen (die Werte von T_V steuern stärker), und um entscheiden zu können, ob die diversen Alkohole und Pheromone die Phasenumwandlungstemperaturen tatsächlich signifikant verschieben oder nicht, wurden in zeitlichen Abständen immer wieder Leerkurven der verwendeten Lecithine vermessen und über die erhaltenen Werte gemittelt, was zugleich einen Anhaltspunkt über die auftretende Fehlergröße ergibt.

1.1. DML als Matrix

Die Umwandlungstemperaturen der DML-Leerkurve einer $1,25 \cdot 10^{-4}$ m Dispersion mit 1% NPN, als Mittelwerte aus zwölf Messungen, ergeben sich zu (in Klammern: Umwandlungsbreiten, alle Werte in °C) :

T_H	↓	T_V	T_H	↑	T_V
$24.0 \pm 0.4 (0.7)$		$15.2 \pm 1 (4.8)$	$23.7 \pm 0.4 (1.2)$		$13.4 \pm 1 (2.0)$

1.1.1. Alkanole in DML

Octanol in DML

%	T_H	↓	T_V	T_H	↑	T_V
400	17.2(3.7)		-	17.4(4.3)		-
500	16.3(4.2)		-	16.1(1.3)		-
300	18.4(4.2)		-	18.7(3.4)		-
250	19.2(3.6)		-	19.5(1.3)		-
150	19.8(2.8)		-	20.5(1.8)		10.5(1.7)
50	22.4(1.1)		13.4(5.1)	22.6(0.7)		11.0(1.6)
160	20.3(2.0)		-	19.9(3.0)		-
120	21.5(1.6)		12.7(4.7)	21.6(1.4)		10.7(Dach)
80	22.0(0.9)		13.4(5.8)	21.2(1.6)		10.2(1.4)
120	20.9(1.5)		12.7(4.7)	21.3(1.5)		-
100	21.6(0.8)		14.2(4.0)	21.6(0.7)		-
140	19.4(5.1)		-	20.5(2.0)		-
90	22.1(0.8)		13.9(5.0)	22.0(1.0)		10.2(1.3)

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
130	20.5(4.1)	-	22.0(1.8)	9.8(0.7)
110	21.5(1.5)	14.1(5.0)	21.3(0.4)	10.1(1.0)
105	21.6(1.5)	13.4(4.1)	20.6(2.0)	10.8(1.3)
125	21.1(1.5)	13.0(3.6)	21.9(2.3)	10.1(Dach)
150	19.8(3.6)	-	21.0(2.9)	-
160	19.3(4.1)	-	19.7(1.8)	-
130	21.0(1.5)	13.7(5.2)	20.5(1.6)	-
120	21.2(1.6)	13.2(4.6)	20.6(2.1)	13.9?(2.9)
150	19.7(3.3)	-	19.8(3.2)	-
130	20.8(4.5)	-	20.5(3.1)	9.5(0.3)
110	21.6(1.7)	13.8(3.6)	21.4(1.6)	10.7(1.7)
165	19.6(3.9)	-	20.5(2.1)	-
145	20.2(3.9)	-	20.8(1.7)	10.2(0.9)
125	21.2(1.4)	12.8(5.0)	21.1(1.4)	10.8(0.9)

Nonanol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
120	19.3(4.6)	-	19.0(4.8)	-
90	19.9(5.1)	-	20.3(3.7)	-
80	20.1(4.0)	-	20.4(2.7)	-
40	20.9(3.0)	12.0(Dach)	20.9(2.4)	13.2(Dach)
70	19.6(5.1)	-	20.4(3.1)	-
50	21.2(3.2)	-	21.3(1.7)	-
30	22.0(0.8)	13.7(4.9)	22.1(0.8)	10.9(1.5)
55	20.9(3.3)	-	21.1(2.8)	-
35	21.5(1.2)	13.2(3.1)	21.5(1.9)	11.1(2.0)
40	21.5(1.1)	13.9(6.0)	21.6(1.3)	10.6(1.9)

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
39	20.9(2.8)	10.8(Dach)	21.6(1.5)	10.0(1.0)
43	21.3(1.4)	13.1(5.4)	21.2(1.7)	9.5(Dach)
45	21.5(2.2)	14.2(4.8)	21.7(1.7)	-
47	21.3(1.9)	14.2(4.3)	21.4(1.7)	10.6(1.4)
49	20.5(3.5)	-	21.3(1.1)	10.5(1.3)
51	20.5(3.8)	-	21.2(1.0)	10.9(1.2)
55	20.3(4.5)	-	21.6(0.7)	-
45	21.2(1.8)	13.7(5.2)	21.5(1.6)	10.1(1.0)
53	20.7(4.4)	-	21.6(1.4)	-
52	20.7(4.2)	-	21.3(0.7)	9.7(1.2)
50	20.9(1.8)	13.8(3.4)	21.5(0.8)	-
42	21.2(1.6)	12.7(3.9)	21.7(1.1)	10.9(1.2)
54	20.0(5.5)	-	21.9(1.1)	-
56	20.3(5.1)	-	20.9(0.7)	-

Decanol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
42	22.6(5.3)	12.0(1.2)	23.3(2.0)	-
40	22.8(3.4)	12.0(1.5)	23.2(2.0)	14.9(2.8)
41	22.8(3.5)	12.5(2.7)	23.1(1.9)	14.9(2.9)
46	22.6(6.0)	-	23.1(5.1)	-
42	22.8(3.7)	13.1(2.1)	23.1(1.3)	-
45	22.7(5.4)	12.3(3.4)	23.2(4.2)	-
47	23.2(3.8)	-	23.0(1.9)	-
43	22.5(4.6)	11.8(2.2)	23.2(1.4)	14.1(3.5)
44	23.3(3.6)	14.4(2.7)	23.1(1.5)	-
39	23.5(2.9)	12.1(2.4)	22.8(1.4)	14.3(3.1)
45	23.0(3.4)	-	23.2(1.9)	-

%	$\downarrow$		$\uparrow$	
	T_H	T_V	T_H	T_V
41	23.2(3.5)	12.4(2.3)	23.2(1.7)	14.7(3.5)
47	23.0(3.5)	-	23.3(2.2)	-
40	24.3(3.1)	13.5(2.4)	22.6(1.4)	14.8(3.6)
44	23.0(4.0)	14.3(2.1)	23.2(1.3)	14.2(2.2)
46	23.2(5.3)	-	23.5(3.7)	-
10	23.4(1.6)	16.2(2.6)	23.9(1.1)	15.5(3.7)
20	23.7(1.7)	18.0(2.2)	23.5(1.2)	15.5(2.9)
30	23.6(1.9)	17.1(2.5)	24.0(1.2)	15.8(2.9)
40	23.7(3.4)	14.2(3.4)	23.9(2.0)	-
60	24.7(5.2)	-	25.7(3.6)	-
50	24.5(3.4)	-	25.1(1.9)	-
35	23.4(4.3)	13.9(3.0)	24.1(1.4)	15.8(3.1)
45	24.1(4.8)	17.3(3.4)	24.5(3.3)	-
40	23.2(3.7)	-	24.0(2.2)	-
30	24.0(2.4)	13.9(2.1)	23.3(1.6)	15.8(2.6)
35	23.6(3.6)	13.7(2.1)	24.0(1.3)	15.8(3.4)
45	23.7(4.5)	-	24.8(3.4)	-
40	23.5(5.1)	-	24.7(3.3)	-
41	23.5(3.5)	12.1(3.0)	22.7(1.4)	14.4(2.6)
45	22.9(3.8)	-	23.1(3.2)	-
43	22.9(3.8)	-	23.2(2.3)	-
39	22.9(4.5)	11.8(2.6)	22.9(3.0)	15.3(2.4)
44	22.9(2.0)	13.1(3.0)	23.2(2.0)	14.9(3.1)
46	23.0(4.1)	-	23.2(3.4)	-
48	24.0(4.2)	-	23.4(4.3)	-
40	22.9(4.3)	12.7(2.7)	23.5(2.5)	-
36	23.4(4.3)	12.3(2.6)	22.8(2.4)	14.9(3.6)
44	22.9(4.0)	-	23.2(1.8)	-
38	22.9(2.9)	11.5(2.9)	23.3(1.4)	15.0(2.9)
37	22.7(3.2)	11.3(2.2)	23.0(1.4)	14.2(3.7)
43	22.6(4.1)	-	23.4(4.0)	-
50	22.5(4.9)	-	23.3(3.6)	-

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
47	22.6(3.9)	-	23.1(5.3)	-
41	22.9(1.3)	15.4(3.5)	23.3(1.1)	14.4(3.2)
46	22.6(2.8)	-	23.6(1.7)	-
43	22.5(3.7)	15.0(1.7)	23.2(2.2)	-
40	23.2(1.4)	15.8(3.6)	23.3(1.3)	15.1(4.7)

Undecanol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	24.4(1.2)	13.2(2.1)	24.1(0.7)	16.5(4.0)
20	24.6(2.6)	14.5(2.3)	24.9(2.0)	19.0(3.1)
30	26.2(3.0)	15.9(4.1)	25.4(3.2)	20.7(4.3)
32	25.4(5.0)	15.6(3.2)	25.6(9.5)	-
35	26.2(4.1)	18.3(2.3)	26.0(7.7)	-
31	25.4(3.3)	16.1(3.8)	25.6(2.9)	-
36	26.2(5.0)	-	26.4(5.7)	-
32	25.9(4.7)	16.8(3.7)	25.6(5.8)	-
37	26.2(4.9)	-	26.5(4.1)	-
30	25.3(4.1)	16.2(2.2)	25.5(1.9)	19.3(3.4)
38	26.4(4.6)	-	27.4(4.7)	-
28	25.7(3.7)	16.9(3.6)	25.9(3.3)	21.5(4.7)
33	25.5(3.9)	17.0(2.1)	25.9(3.3)	20.5?(2.9)
31	26.2(2.5)	17.4(3.0)	25.5(1.8)	20.7(3.8)
35	25.9(4.2)	16.9(2.3)	26.4(3.0)	-
37	25.8(5.1)	-	27.2(4.1)	-
32	25.9(6.1)	16.4(2.9)	25.7(3.2)	21.2(2.7)
38	26.5(7.0)	-	27.1(5.0)	-

Dodecanol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
17	25.7(2.5)	16.4(3.6)	25.5(1.6)	20.5(5.0)
24	26.5(4.9)	-	26.2(7.5)	-
19	25.9(3.5)	17.4(3.0)	26.2(1.7)	-
18	26.0(2.9)	17.2(2.6)	25.7(6.1)	-
17	25.6(3.0)	17.3(3.0)	25.5(1.5)	19.9(4.3)
21	26.0(3.1)	-	26.5(2.2)	20.9(6.7)
15	25.5(3.7)	17.6(2.6)	25.9(1.3)	19.5(5.0)
16	25.9(2.3)	16.6(2.5)	25.5(1.6)	20.3(6.0)
20	25.1(2.6)	16.3(3.2)	25.6(2.0)	20.8(5.2)
22	25.9(1.6)	-	26.1(2.0)	22.0(4.4)
24	26.1(2.8)	-	26.4(1.9)	22.1(5.6)
21	25.5(2.7)	-	26.2(1.9)	21.5(5.5)
26	25.9(5.8)	-	26.5(5.7)	-
25	25.9(2.6)	-	26.2(2.2)	21.7(5.8)
28	26.0(3.2)	-	26.3(2.1)	22.7(7.3)
23	25.6(2.1)	16.2(3.5)	25.8(1.3)	21.1(5.8)
30	26.1(5.3)	-	26.5(7.8)	-
22	25.7(2.3)	16.9(2.3)	26.2(2.1)	21.7(6.8)
29	25.9(7.3)	-	26.2(6.4)	-

Tridecanol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	25.0(1.4)	15.9(1.8)	25.5(1.9)	18.6(3.9)
12	25.4(1.6)	17.4(3.0)	24.7(1.2)	19.3(4.3)
14	25.5(1.7)	17.8(2.4)	25.8(2.0)	18.6(4.4)

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
18	25.9(1.5)	-	25.5(1.8)	20.1(3.6)
20	25.7(3.5?)	-	25.5(5.2)	-
36	26.9(5.8)	-	27.7(5.7)	-
28	26.7(4.7)	-	27.3(3.8)	-
15	25.6(1.4)	17.7(3.1)	24.2(Dach)	17.8(Dach)
18	26.0(2.3)	-	25.8(Dach)	-
16	25.8(2.4)	-	25.9(3.4)	20.9(3.8)
14	25.9(1.5)	16.4(3.5)	25.7(2.3)	19.5(4.7)
19	25.7(3.8)	-	26.2(6.2)	-
13	25.6(1.7)	16.9(3.5)	25.6(2.7)	19.7(4.8)

Tetradecanol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
20	26.1(6.5)	-	26.3(4.3)	-
10	25.8(1.4)	-	26.3(1.7)	-
8	25.7(2.9)	-	25.2(1.3)	16.8(5.5)
6	25.0(2.9)	14.7(2.4)	25.1(1.2)	16.9(5.0)
4	25.0(2.4)	15.1(3.3)	24.9(1.1)	16.6(5.2)
2	25.2(1.3)	17.2(2.4)	24.6(0.6)	16.1(4.4)
3	24.8(2.8)	14.5(2.8)	24.8(1.3)	15.9(5.7)
5	25.1(3.2)	15.8(2.2)	24.9(1.6)	16.9(4.4)
7	25.7(2.7)	-	25.7(1.7)	16.0(2.9)
9	25.2(3.3)	-	25.4(1.9)	17.0(3.9)
11	24.6(4.1)	-	26.3(2.1)	-
13	25.8(5.4)	-	26.2(2.9)	-
12	25.4(5.9)	-	25.9(5.0)	-
10	25.5(3.8)	-	26.0(2.0)	-
8	25.6(3.2)	-	25.9(1.2)	17.6(6.5)

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
6	25.5(2.3)	16.2(3.7)	24.9(0.7)	16.3(6.1)
4	24.2(3.0)	15.3(3.9)	24.8(0.9)	16.8(3.9)
5	24.5(0.9)	18.2(4.9)	24.5(1.0)	15.3(6.4)
30	33.3 / 23.9(7.4)	-	27.0(5.2)	-
6	24.9(1.0)	18.3(3.0)	24.3(1.7)	16.1(5.8)
8	24.9(2.6)	-	25.2(2.0)	17.1(5.1)
14	24.8(6.2)	-	25.7(4.1)	-
40	38.5/33.5/23.9/ (0.9/ 0.2/ 5.8)	-	27.9(7.0)	-
50	inst.	-	27.4(5.1)	-

Pentadecanol in DML

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
10	23.5(3.3)	12.5(Dach)	24.6(1.8)	13.8(3.7)
20	23.7(4.9)	10.6(Dach)	24.2(3.0)	15.1(6.3)
30 inst	23.7(7.3)	11.0?(Dach)	24.7(5.4)	15.7(7.4)
8	22.9(3.0)	14.9(Dach)	24.2(1.3)	13.5(3.4)
6	23.4(2.8)	13.5(Dach)	24.1(1.6)	15.1(6.3)
4	23.1(3.2)	13.7(Dach)	23.8(2.0)	14.4(4.2)
11	23.4(4.7)	13.5(3.1)	25.3(3.2)	13.7(3.3)
15	24.2(4.1)	13.4(4.4)	25.8(4.8)	14.4(3.2)
20	23.7(5.0)	-	25.0(4.6)	14.5(4.9)
30	23.9(4.6)	-	24.8(3.5)	16.2(6.3)
40 inst	23.3(7.1)	-	26.6?(3.7?)	14.4?(4.1?)
50 inst	24.0(5.7)	-	25.2?(5.0?)	13.9(3.7?)

Hexadecanol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
5	24.0(2.4)	14.7(Dach)	23.9(2.5)	14.6(5.3)
10	24.1(2.4)	13.4(Dach)	23.8(1.2)	15.0(4.7)
20	23.8(4.2)	11.8(Dach)	25.7(2.4)	13.8(5.4)
15	25.2(3.4)	13.5(Dach)	24.5(2.2)	15.1(5.3)
25	23.5(4.5)	12.8?(Dach)	25.2(2.8)	14.1(2.1)
16	23.9(6.0)	12.0(Dach)	25.0(3.5)	13.2(2.8)
12	23.5(2.6)	11.7(Dach)	24.5(1.5)	14.5(4.6)
6	24.0(2.3)	13.8(Dach)	24.4(1.4)	14.1(6.6)
4	23.8(2.4)	14.1(Dach)	24.5(1.2)	15.1(5.5)
7	23.7(1.9)	12.5(Dach)	24.5(1.0)	13.9(2.0)
9	23.8(1.8)	11.8(Dach)	23.7(1.6)	13.5(3.3)
11	23.9(3.7)	13.6(3.6)	24.0(1.7)	14.4(4.7)
13	23.9(4.1)	13.6(3.9)	24.6(3.8)	14.3(3.4)
15	24.3(3.0)	14.7(4.3)	24.6(3.0)	14.6(5.0)
20	23.9(4.0)	14.7(4.9)	24.6(2.6)	14.2(4.2)
30inst.	23.8(3.8)	12.9?(Dach)	24.2?(2.5?)	15.8?(4.2?)
30inst.	23.4(1.6)	13.8(4.7)	23.6(1.5)	14.3(3.7)
40	23.9(3.1)	inst.	24.1(3.0)	13.8(3.0)
60	23.4(4.2)	inst.	24.0(3.5)	13.8(5.5)
20	23.6(3.1)	12.0(Dach)	24.4(1.7)	14.2(3.5)

Octadecanol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	23.2(1.4)	15.0(3.9)	23.2(1.1)	12.2(1.8)
20	23.1(1.2)	14.1(5.8)	23.4(1.2)	12.6(2.3)

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
30	23.1(1.0)	13.8(5.9)	23.2(1.6)	12.8(2.0)
40 inst.	22.4(2.2)	10.9(Dach)	23.3(2.3)	12.7(2.6)
50 inst.	23.1(~2.7)	11.2(Dach)	23.4(~2.9)	12.9(~1.9)
60 inst.	22.7(2.2)	11.3(Dach)	23.2(~2.3)	12.5(~2.8)

Eicosanol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	23.2(0.9)	13.9(6.6)	22.7(3.9)	11.7(1.7)
20	23.2(0.9)	13.4(4.7)	23.2(1.5)	12.1(1.6)
30	23.1(0.6)	14.2(7.5)	22.5?(~3.2)	12.0(2.0)
40	23.2(0.6)	14.1(5.0)	23.5(0.7)	11.8(2.0)
50	23.3(0.6)	14.8(5.3)	23.2(1.5)	11.5(1.8)
60 inst.	22.5?(1.8?)	13.4?(6.2)	inst.	inst.

1.1.2. Z-9-Tetradecenol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	21.9(0.9)	14.0(2.8)	21.2(1.5)	13.6(3.2)
20	18.8(8.8)	-	20.2(1.3)	16.0(3.3)
30	17.0(6.7)	-	17.0(5.9)	-
15	20.1(2.8)	12.4(2.3)	20.1(1.4)	15.1(3.0)
25	16.8(6.4)	-	17.1(5.7)	-
12	20.9(2.3)	12.0(3.0)	21.0(1.4)	15.2(2.4)
20	18.2(8.3)	-	20.2(1.6)	16.6(3.4)

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
22	18.4(6.9)	-	19.2(0.9)	16.3(2.3)
19	18.5(9.1)	-	20.4(1.2)	15.9(2.8)
23	17.6(6.1)	-	17.5(5.2)	-
17	19.8(7.6)	-	20.1(1.4)	15.6(4.3)
15	20.3(2.9)	16.4(2.7)	20.7(1.6)	15.6(2.8)
16	20.7(1.7)	13.2(1.9)	21.0(1.5)	15.3(2.5)
18	19.5(6.8)	-	20.3(1.4)	16.1(3.3)
22	18.1(7.1)	-	17.4(6.2)	-
17	18.3(7.0)	-	19.9(0.9)	16.3(2.3)

1.1.3. E-9-Tetradecenol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	23.5(1.1)	13.0(1.4)	23.6(0.8)	16.6(4.2)
20	23.7(0.9)	-	24.3(1.0)	-
30	24.2(4.3)	-	24.4(5.3)	-
15	24.0(1.0)	-	23.7(0.9)	18.7(5.2)
5	23.5(0.6)	17.2(2.9)	23.6(0.3)	15.3(3.3)
13	23.3(2.5)	15.3(2.6)	23.8(0.7)	18.1(5.1)
17	23.9(1.5)	17.8(4.4)	24.3(0.9)	-
19	23.6(1.6)	-	24.1(1.2)	18.6(6.9)
14	23.7(0.9)	-	23.7(0.3)	17.5(5.4)
21	23.7(1.6)	-	24.0(4.9)	-
25	24.0(2.5)	-	24.1(3.4)	-
12	23.6(0.9)	14.6(1.8)	23.8(0.7)	17.5(4.2)
16	23.8(1.0)	-	23.8(1.5)	18.6(5.7)
18	23.9(1.3)	-	23.9(1.0)	18.8(5.7)
20	24.0(1.7)	-	23.8(2.6)	-
40	24.1(4.6)	-	24.3(5.5)	-

%	T_H	T_V	T_H	T_V
50	25.0(4.6)	-	24.8(4.8?)	-
60	26.7(7.6)	-	26.3(6.2)	-

1.1.4. Z-9,Z-11-Tetradecadienol in DML

%	T_H	T_V	T_H	T_V
10	23.1(0.9)	15.6(4.1)	23.6(0.6)	16.5(2.1)
20	23.0(1.0)	14.6(2.3)	23.5(0.7)	18.6(2.0)
30	23.7(3.2)	-	24.0(2.9)	-
25	23.4(1.4)	-	23.5(1.0)	20.1(1.2)
23	23.4(0.9)	15.6(2.9)	23.8(1.0)	19.7(2.0)
27	23.9(2.6)	-	23.6(1.0)	19.5(2.5)
24	23.4(1.4)	-	23.8(1.2)	20.3(1.7)
28	23.7(3.0)	-	23.9(4.4)	-
22	23.3(1.3)	15.7(1.8)	23.9(0.9)	19.0(4.0)
29	23.8(1.9)	-	23.5(1.1)	19.5(3.1)
31	23.1(1.5)	-	24.5(1.0)	-
15	23.3(0.8)	14.3(1.5)	23.6(0.7)	18.1(1.8)
40	23.2(3.9)	-	24.1(4.6)	-
60	26.0(4.1)	-	26.2(3.0)	-
25	23.0(1.3)	17.0(1.8)	23.9(0.8)	19.7(2.7)
50	25.2(5.1)	-	25.7(3.1)	-
25	22.6(1.2)	14.8(2.0)	23.8(1.2)	19.4(2.4)
27	23.3(1.5)	15.5(1.8)	23.5(0.9)	inst.
29	23.3(1.7)	-	24.1(1.1)	-
27	24.1(1.3)	15.1(2.2)	23.5(1.0)	19.1(2.8)
32	23.5(1.5)	-	23.8(3.6)	-
26	23.4(1.3)	-	23.5(1.0)	19.4(2.9)

1.1.5. Z-9-Tetradecenylacetat in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	21.1(1.6)	13.5(1.7)	21.9(1.1)	13.0(2.1)
20	19.8(2.2)	21.1(Dach)	invers 19.6/24.0 (1.9/2.2)	13.0(2.1)
30	~19.5(Dach)	~11.8(Dach)	invers 24.5(0.9)	11.5(2.6)
40	~19.0(Dach)	-	invers 17.3(4.8)	-
50	~18.0(Dach)	-	invers 18.4(5.1)	-
60	invers 22.6(9.7)	-	invers 19.6(6.3)	-
75	invers 20.4(10.1)	-	invers 22.8(5.5)	-
35	~18.6(Dach)	10.1?(Dach)	invers 18.1(6.0)	-
45	invers 21.4(6.8)	-	invers 20.3(5.8)	-
25	~19.0(Dach)	~10.5(Dach)	invers 19.5/21.5 (7.2/4.7)	12.8?(1.8?)

1.1.6. E-9-Tetradecenal in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	23.5(0.8)	16.6(3.3)	23.7(0.8)	16.6(3.6)
20	23.5(1.0)	-	23.8(0.8)	19.8(5.1)
15	23.5(0.7)	16.4(2.5)	23.8(1.2)	18.8(5.1)
25	23.4(3.1)	-	23.6(3.7)	-
18	23.8(1.0)	-	24.0(0.9)	20.3(2.5)
23	23.3(1.0)	-	23.9(1.0)	20.0(5.0)
16	23.6(0.6)	15.4(1.7)	23.8(1.2)	18.7(3.5)
24	23.4(0.9)	-	23.7(0.6)	19.5(3.9)
17	23.4(0.6)	-	23.8(0.7)	19.5(2.2)
26	23.8(1.1)	-	23.8(2.1)	-

%	T_H	T_V	T_H	T_V
14	23.5(1.2)	16.0(3.9)	23.9(1.2)	18.7(2.5)
30	23.3(3.4)	-	23.9(3.3)	-

1.1.7. Z-11-Hexadecenol in DML

%	T_H	T_V	T_H	T_V
10	22.1(1.5)	-	22.5(1.5)	14.1(2.8)
20	22.2(3.8)	-	21.7(7.6)	-
30	21.3(2.7)	-	22.7(4.2)	-
5	23.2(0.4)	16.6(2.6)	22.7(1.3)	13.9(3.5)
15	22.2(4.0)	-	22.2(2.2)	-
7	22.7(0.9)	15.9(1.5)	22.6(0.4)	15.3(2.2)
9	22.8(1.0)	16.3(1.3)	22.2(?)	14.6(2.9)
11	22.8(1.3)	-	22.6(0.6)	14.1(2.7)
6	22.9(0.6)	14.8(5.0)	22.7(0.6)	14.3(3.3)
12	22.6(0.9)	-	22.7(0.7)	15.3(4.4)
7	22.4(1.2)	16.4(3.6)	22.4(0.5)	14.3(2.5)
14	22.7(1.4)	-	22.7(0.6)	15.4(4.4)
9	23.0(0.8)	16.4(3.2)	22.3(1.3)	14.6(3.8)
16	22.2(1.2)	-	22.3(0.7)	-
17	22.5(1.1)	-	22.4(1.5)	-
8	22.1(1.4)	12.9(Dach)	22.3(1.2)	15.7(3.2)
13	22.2(1.2)	-	22.2(0.7)	14.8(4.8)
18	21.8(2.8)	-	21.9(3.6)	-
8	22.6(1.2)	13.7(3.7)	22.2(0.8)	13.2(4.8)
6	22.8(0.9)	14.4(5.3)	22.6(1.3)	13.9(2.4)
7	22.5(1.2)	16.0(3.1)	22.6(0.4)	14.4(3.9)
9	22.8(1.1)	14.1(Dach)	22.6(0.8)	14.7(5.1)
11	21.7(1.4)	-	22.7(0.6)	15.4(4.2)

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	21.8(1.2)	-	22.2(0.5)	15.7(4.5)
8	22.2(0.6)	15.8(3.6)	22.7(0.9)	14.2(3.9)
12	22.3(1.4)	-	22.4(0.5)	15.3(4.1)

1.1.8. E-11-Hexadecenol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	22.9(0.5)	13.5(4.1?)	23.1(1.1)	11.5(~0.3)
20	22.9(0.3)	13.6(4.7)	22.6(1.5)	12.1(~0.8)
30	22.4(0.4)	13.0(2.5)	23.0(~0.7)	17.8(3.7)
40	22.6(0.6)	17.4(1.2)	22.8(~0.1)	18.5(~0.2)
50	22.4(0.5)	17.6(0.7)	23.4(~0.2)	17.8(~0.9)
60	22.3(0.7)	18.0(1.5)	23.1(~0.2)	18.3(~0.6)
75	22.2(0.7)	17.8(0.9)	23.3(~0.5)	18.3(1.6)
90	21.4(0.7)	17.1(1.3)	22.4(1.4)	17.8(1.5)

1.1.9. Z-11,Z-13-Hexadecadienol in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	24.3(0.7)	17.4(4.2)	24.7(0.9)	17.2(1.6)
20	25.5(1.0)	20.1(1.7)	25.4(1.0)	18.4(1.0)
30	26.2(3.6)	-	26.2(2.8)	-
25	25.2(3.1)	-	25.5(3.1)	18.8(1.9)
23	25.0(3.9)	-	25.8(1.7)	17.5(3.0)
27	24.7(4.2)	-	25.8(2.9)	-
21	25.2(3.9)	-	25.3(1.4)	18.3(3.9)

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
19	25.1(1.0)	19.0(2.3)	25.2(1.1)	18.5(3.1)
26	25.0(4.0)	-	26.4(4.7)	17.7(1.6)
28	24.7(4.4)	-	26.3(2.7)	-
29	25.1(3.9)	-	25.9(1.5)	-
31	25.5(3.2)	-	26.1(2.8)	-
32	26.0(1.2)	-	26.1(2.0)	-
22	25.0(3.7)	-	25.5(2.7)	20.0(0.8)
18	24.6(1.5)	18.7(0.7)	25.0(1.1)	18.6(1.1)
28	25.4(2.9)	-	25.7(3.1)	-
16	24.7(0.8)	18.2(1.1)	25.0(1.0)	18.1(1.5)
25	24.9(3.6)	-	25.2(2.0)	17.8(4.6?)
40	24.7(4.8)	-	26.6(2.6)	-
60	32.2/23.3	-	32.4/25.4	-
	(1.0/5.1)		(0.9/3.1)	
50	30.9/22.9	-	27.0(6.8)	-
	(1.6/4.5)			
40	26.1(9.3)	-	27.3(5.0)	-

1.1.10. Z-13-Octadecenol in DML

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
20	22.8(1.2)	14.3(5.4)	21.7(3.3)	13.3(5.3)
27	22.2(1.4)	13.2(5.1)	22.6(1.1)	11.6(3.3)
32	22.5(1.8)	15.0(3.3)	22.5(2.8)	12.1(1.6)
37	22.8?(1.2)	13.5?(4.4)	22.7(1.8)	11.5(3.0)
47	21.6(2.4)	11.6?(3.1)	20.8(4.0)	12.8(Dach)
10	23.1(0.9)	13.9(4.8)	23.2(1.5)	12.2(2.6)
20	22.4(2.4)	-	23.9(1.1)	16.1(2.3)
10	22.8(3.2)	10.0(Dach)	23.9(0.9)	10.9(1.8)
15	22.6(2.8)	10.4(Dach)	23.4(2.1)	11.4(2.2)

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
5	23.1(1.1)	14.6(5.4)	22.9(1.6)	11.3(2.2)
20	23.2(1.1)	14.1(5.8)	23.4(2.0)	11.7?(2.2?)
30	23.3(1.7)	14.0(6.9)	23.3(1.3)	11.2(1.6)
40	23.2(1.6)	13.8(4.8)	23.8(1.5)	11.7(1.6)
50	23.1(2.2)	13.7(2.7)	23.3(1.7)	10.6(2.1)
10	22.8(2.5)	12.1(Dach)	23.7(1.0)	12.5(≈0.5)
20	22.7(3.2)	-	23.8(1.4)	10.2?(1.7?)
30	22.6(4.0)	-	23.8(1.1)	12.2(≈1.1)
15	22.9(5.6)	10.9(Dach)	23.7(1.8)	11.8(≈0.9)
25	22.7(3.2)	11.2(Dach)	23.2(2.0)	11.1(≈0.5)
10	21.9?(3.0)	11.0(≈0.9)	22.2(1.5)	12.8(2.4)
20 inst.	21.9(2.7)	12.4(1.1)	21.9(2.2)	12.8(1.2)
30	21.6(4.1)	-	19.6?(1.2)	12.9(1.2)
25	22.2(2.9)	13.5(1.4)	21.6(2.7)	12.7(2.3)
32	21.7(2.9)	-	~ 23.1(Dach)	12.6?(≈1.7)
15	22.3(1.5)	14.8(2.6)	21.9(1.7)	12.4(1.9)
40	21.9(1.4)	-	22.7(≈0.5)	12.7(1.9)
50	22.0(1.5)	12.2(≈1.4)	22.3(≈0.3)	12.5(1.5)
60	21.3(3.1)	-	22.1(≈1.0)	11.6(1.4)
80	21.3(3.3)	-	21.6(≈1.0)	11.4(1.3)
100	20.8(3.8)	-	22.1(2.6)	11.7(≈1.0)
120	21.6(3.3)	-	22.2(≈2.2)	12.0(≈0.8)
90	21.5(1.9)	12.9(1.6)	22.2(2.9)	11.5(≈1.3)
110	21.3(3.2)	-	22.3(2.9?)	11.0?(1.8?)
70	21.7(2.1)	13.0(1.7)	22.4(1.6)	11.4(1.1?)
128	21.0(3.7)	-	22.2(3.0)	11.4(0.6?)
95	20.8(5.7)	9.4?(0.4?)	21.9(3.3)	11.4(0.7?)
105	21.0(4.2)	-	22.1(2.8)	11.5(0.9?)
150	20.6(3.7)	-	22.0(2.4)	-
160	21.2(2.5)	-	21.4(1.7)	-
140	20.5(3.7)	-	21.5(1.4)	-
120	21.3(4.1)	-	21.5(2.2)	11.5(≈1.3)

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
110	20.8(4.5)	-	21.6(2.6)	11.3(0.9)
130	21.0(2.4)	-	21.3(2.7)	11.3(0.3?)
100	20.9(4.0)	-	21.7(3.2)	11.0(2.1?)

1.1.11. Z-13-Octadecenylacetat in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	22.6(1.0)	12.5(4.4)	22.7(4.1)	11.6(0.3)
20	23.0(0.3)	14.4(5.0?)	22.2(5.0)	11.4(0.3)
30	22.7(1.6)	-	22.3(3.2)	-
40	21.9(2.7)	-	20.3/28.4 (3.7/0.5)	11.8(0.5)
60	invers 22.7(1.5)	-	invers 23.0/28.5 (0.8/Dach)	-
30	22.2(3.7)	-	21.1(3.7)	9.4?(0.2?)
50	invers 22.3(1.6)	-	invers 24.4(2.6?)	-
15	22.2(2.5)	10.4(Dach)	22.7(1.7)	11.0(1.3)
25	22.1(3.0)	11.0(Dach)	23.1(1.6)	-
35	21.7(1.8)	9.6?(Dach)	20.8(2.5)	-

1.1.12. Z-13-Octadecenal in DML

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	22.5(2.8)	12.2(Dach)	23.4(0.9)	12.7(1.8)
20	22.8(2.0)	11.5(Dach)	23.2(1.0)	12.8(2.5)

	↓		↑	
%	T_H	T_V	T_H	T_V
30	23.2(2.4)	10.0?(Dach)	23.5(1.2)	13.2(2.6)
40	22.8(3.7)	10.8(Dach)	23.4(1.8)	12.5(1.9)
60	23.2(1.8)	12.6(4.2)	23.6(1.2)	13.5(2.8)

1.2. DPL als Matrix

Die Phasenumwandlungstemperaturen und -breiten der DPL-Leerkurve aus $1,25 \cdot 10^{-4}$ m DPL-Dispersion mit 1% NPN, gemittelt aus 17 Versuchen, ergeben sich wie folgt:

↓		↑	
T_H	T_V	T_H	T_V
$40.9 \pm 0.2(1.6)$	$30.5 \pm 0.4(5.0)$	$41.0 \pm 0.2(1.4)$	$32.3 \pm 0.4(6.5)$

Die Maxima des Absorptions- beziehungsweise Emissionsspektrums liegen, wie bei der DML-Dispersion, bei 345 beziehungsweise 415 nm.

1.2.1. Alkanole in DPL

Octanol in DPL

	↓		↑	
%	T_H	T_V	T_H	T_V
100	39.8(1.9)	28.5(4.2)	39.8(1.9)	29.1(6.9)
150	39.2(2.0)	27.9(3.5)	39.2(1.5)	28.2(6.3)
200	39.0(1.6)	27.0(1.4)	38.7(1.9)	29.0(3.3)

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
250	38.3(2.1)	26.3(2.4)	38.3(2.0)	27.9(3.5)
300	38.1(2.4)	25.1(2.7)	37.7(2.1)	27.3(3.9)
300	37.2(3.0)	24.7(Dach)	36.2(3.5)	25.2(3.6)
400	35.2(3.5)	21.9(Dach)	35.5(3.1)	24.2(1.9)
500	33.9(4.4)	-	33.3(5.9)	-
450	34.1(4.6)	-	34.1(5.1)	-
420	34.5(4.2)	-	34.3(4.1)	-
400	35.5(3.2)	22.4(Dach)	35.4(2.8)	24.0(2.0)
440	34.7(3.8)	-	34.6(5.7)	22.9(1.0)
480	34.3(4.3)	-	34.0(4.2)	-
460	34.2(4.1)	-	34.2(5.5)	-

Nonanol in DPL

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
40	39.9(2.5)	28.4(3.7)	39.6(2.0)	30.2(4.9)
60	38.9(3.2)	27.6(2.7)	39.3(1.8)	29.4(4.4)
80	38.2(3.0)	27.0(1.9)	37.9(1.8)	27.9(2.5)
100	36.7(3.5)	-	36.7(2.5)	-
90	37.4(5.0)	26.3(Dach)	37.5(2.1)	26.5(2.9)
400	32.7(2.3)	-	31.8(3.3)	-
200	34.0(4.4)	-	33.9(3.4)	-
135	35.3(6.1)	-	35.4(6.0)	-
90	38.0(2.7)	24.3(2.1)	37.9(2.2)	27.1(3.6)
10	40.5(1.4)	29.4(4.9)	40.6(1.6)	31.1(8.4)
20	40.2(1.6)	28.8(5.2)	39.7(2.5)	30.6(6.4)
30	39.6(1.8)	28.5(3.9)	39.7(2.1)	30.0(7.8)
40	39.4(2.2)	28.0(4.6)	39.1(2.8)	29.7(5.6)
50	39.0(2.2)	26.6(3.5)	39.0(3.2)	28.8(6.4)

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
60	38.7(1.9)	25.7(3.9)	38.3(3.2)	28.3(5.0)
70	37.9(2.5)	25.3(4.4)	38.2(2.2)	27.2(4.6)
80	37.6(3.1)	25.0(Dach)	37.4(2.4)	26.4(4.7)
75	38.0(3.1)	26.1(Dach)	38.1(2.5)	27.4(2.9)
85	37.2(3.0)	23.9(Dach)	37.4(3.6)	25.9(2.9)
95	36.8(3.6)	-	37.1(3.3)	23.3(2.4)
105	36.3(5.3)	-	36.0(3.9)	-
100	36.4(4.0)	-	36.7(4.1)	23.6?(Dach)
90	36.6(3.2)	-	36.8(4.1)	24.7(1.0)
50	37.1(3.7)	25.8(Dach)	37.5(2.7)	25.8(2.6)

Decanol in DPL

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
20	40.0(2.8)	26.9(4.2)	39.8(2.0)	31.1(4.7)
10	41.0(1.5)	30.6(4.1)	40.9(1.5)	32.3(5.8)
30	38.6(3.0)	-	38.3(3.3)	-
100	37.6(3.5)	-	37.6(3.4)	-
50	37.5(2.9)	-	37.6(2.6)	-
25	38.9(3.0)	-	39.1(2.1)	28.1(3.8)
25	39.5(2.8)	-	39.4(2.0)	29.1(4.0)
21	40.1(3.5)	29.8(4.9)	40.4(1.6)	31.3(4.7)
25	39.5(2.6)	-	39.3(1.6)	29.5(3.6)
27	38.9(3.6)	-	39.1(2.5)	27.7(3.9)
29	38.6(4.9)	-	38.8(3.2)	-
31	38.3(4.4)	-	38.6(3.0)	-
28	38.8(2.9)	-	38.5(2.3)	-
23	39.3(4.2)	29.1(3)	39.4(1.9)	29.1(5.8)
21	40.0(3.1)	28.3(4.2)	39.5(2.1)	30.7(4.9)

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
25	39.0(3.5)	-	39.1(2.3)	27.9(5.1)
27	39.3(3.9)	-	38.3(3.2)	27.2(3.5)
29	38.7(4.3)	-	38.6(4.3)	27.7(4.7)
31	38.4(4.8)	-	38.3(3.0)	-
33	38.4(5.8)	-	38.4(4.7)	-
30	39.1?(6.3?)	-	38.5(2.8)	-
40	37.8(3.0)	-	37.9(3.1)	-
30	38.4(3.8)	-	38.2(3.3)	-
20	38.9(3.6)	28.0(6.0)	39.2(2.5)	29.5(6.4)
22	38.8(3.7)	-	38.8(2.7)	27.9(5.1)
18	39.0(3.5)	28.0(5.1)	39.3(1.9)	29.8(5.1)
10	39.7(2.6)	28.2(4.7)	39.9(1.7)	31.1(4.9)
32	38.3(3.7)	-	38.0(4.6)	-
30	38.2(3.2)	-	38.4(3.1)	-
28	38.2(4.1)	-	38.3(5.9)	28.8(2.3)
24	38.6(3.2)	-	38.6(2.8)	28.1(3.2)
22	39.0(2.7)	-	38.7(3.0)	28.6(3.4)
29	38.5(3.6)	-	38.1(4.5)	-
21	39.3(3.0)	29.2(5.4)	38.9(2.4)	29.4(4.0)
19	39.3(3.4)	27.6(5.1)	39.0(2.1)	28.7(6.0)
23	39.0(2.3)	-	38.9(2.8)	28.8(4.9)
25	38.8(2.9)	-	39.0(2.5)	28.9(4.6)
15	39.6(3.2)	29.2(3.3)	39.4(1.4)	30.8(4.3)
23	39.2(2.5)	-	39.0(2.2)	29.2(4.1)

Undecanol in DPL

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
30	39.2(4.1)	26.4(2.4?)	39.7(2.3)	32.1(~1.9)
20	39.5(4.3)	27.5(2.7)	39.6(2.3)	33.0(~1.7)

№	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
10	40.8(1.5)	30.8(5.3)	40.8(1.4)	33.1(3.2)
30	39.7(2.7)	26.2(1.5)	39.8(2.8)	31.8(4.4)
15	40.1(2.3)	25.8(Дача)	39.9(2.0)	31.6(7.2)
13	40.1(2.3)	29.1(6.0)	40.2(1.2)	31.2(7.2)
15	40.2(1.9)	29.2(5.5)	39.8(1.1)	31.8(5.4)
17	39.7(2.0)	26.6(~1.4)	40.0(1.9)	31.8(5.3)
16	39.9(2.4)	27.8(3.8)	39.7(2.0)	31.9(5.4)
18	39.8(2.2)	27.2(~1.8)	40.1(2.1)	30.8(6.7)
20	39.9(3.3)	27.0(~1.4)	39.6(1.6)	31.6(4.5)
22	39.7(2.9)	25.9(1.7)	39.8(2.1)	31.7(4.5)
24	39.5(3.7)	25.7(~1.7)	39.6(1.7)	31.3(4.1)
26	39.5(2.9)	26.4(1.4)	39.6(2.3)	31.4(4.0)
30	39.7(2.6)	26.5(1.8)	39.9(2.4)	31.6(4.4)
40	39.6(3.1)	-	39.7(3.2)	-
38	39.8(3.9)	26.2(2.7)	39.9(4.0)	31.1(5.2)
42	40.0(4.5)	-	40.0(4.1)	-
39	40.0(3.4)	-	40.1(3.2)	-
37	39.9(3.6)	-	40.1(5.1)	-
42	39.8(3.7)	-	39.9(3.6)	-
35	40.1(3.5)	28.6(2.1)	39.5(2.9?)	31.3(4.0)
37	40.0(3.9)	28.7(3.2)	39.3(3.9)	30.6(5.6)
41	40.2(4.3)	-	39.6(4.0)	-
39	40.0(4.3)	-	40.0(4.4)	-
36	39.8(4.2)	27.3(2.8)	39.6(3.0)	31.2(3.4)
38	39.9(4.0)	27.4(3.7)	40.0(4.0)	-
40	39.8(3.4)	-	39.6(3.5)	-
35	39.6(3.4)	27.3(~1.9)	39.7(2.8)	31.1(4.9)
10	40.1(2.0)	30.5(4.2)	40.2(1.4)	31.9(6.3)
18	39.4(3.7)	27.8(5.4)	39.8(2.5)	31.1(5.9)
12	40.3(2.4)	30.3(5.5)	39.4(1.7)	30.9(6.7)
16	39.7(3.5)	30.0(5.8)	39.7(2.4)	31.7(5.9)
14	40.1(2.6)	30.3(6.1)	39.6(1.8)	32.6(4.7)

%	↓		↑	
	t_{HI}	t_{VI}	t_{HI}	t_{VI}
22	39.3(3.7)	27.6(3.8)	39.6(2.6)	31.1(4.5)
11	40.1(2.1)	29.6(4.0)	39.9(1.5)	31.8(6.7)
24	39.3(4.2)	26.9(2.3)	39.7(3.1)	31.9(6.0)
13	40.0(2.5)	30.0(4.7)	39.8(2.3)	32.2(4.7)
26	39.4(3.2)	25.8(1.6)	39.8(2.8)	30.9(5.6)
15	40.0(2.9)	28.6(4.8)	39.6(1.9)	32.4(4.0)
34	39.2(3.8)	27.3(1.7)	39.6(3.2)	31.0(5.0)
36	39.5(3.9)	28.2(2.4)	39.7(2.9)	-
38	39.5(4.3)	29.5(3.9)	39.8(3.7)	-
40	39.7(3.4)	-	39.7(4.0)	-
35	39.5(4.2)	28.9(3.8)	39.7(4.0)	-
39	39.8(3.7)	-	39.8(3.4?)	-
33	39.5(3.5)	26.6(1.6)	39.5(3.2)	31.2(3.8)
41	40.0(3.2)	-	39.6(3.1)	-
37	39.6(3.9)	27.8(2.2)	39.8(2.5)	-
60	41.0(3.8)	-	41.5(3.5)	-
75	41.8(3.5)	-	42.4(3.4)	-
90	42.3(2.9?)	-	42.6(3.3)	-
50	40.7(3.6)	-	41.0(3.4)	-
25	39.5(3.6)	26.3(2.0)	40.0(2.8)	32.3(3.6)
32	39.3(3.9)	27.2(1.7)	40.0(2.9)	32.3(2.6)
36	39.6(4.5)	28.3(4.5)	39.9(2.7)	-
38	39.8(3.4)	-	40.0(3.3?)	-
40	39.5(4.0)	-	40.0(3.4?)	-
33	39.3(3.7)	27.2(1.8)	39.8(3.0)	31.5(4.8)
35	39.6(3.5)	27.4(2.0)	40.1(3.4)	31.8(4.4)
37	39.4(4.3)	27.5(3.2)	40.0(3.6)	32.1(5.1)
39	39.7(3.2)	-	40.0(3.0)	-
41	39.6(2.9)	-	39.9(2.9)	-
34	39.5(3.1)	26.6(1.5)	39.8(2.6)	31.6(4.1)
36	39.6(3.1)	27.1(1.6)	39.8(3.4)	31.3(3.9)
38	39.5(3.7)	27.5(2.4)	40.0(2.7)	-

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
40	39.4(3.2)	-	39.8(3.3)	-
42	39.1(4.0)	-	39.9(3.4)	-
35	39.5(4.0)	26.9(2.0)	40.0(3.1)	31.4(3.9)
12	39.9(2.6)	28.8(4.1)	40.3(1.8)	32.5(6.2)
15	39.7(2.7)	28.2(3.2)	40.1(2.1)	32.0(6.9)
18	39.3(3.5)	26.8(4.4)	39.9(2.1)	32.0(5.1)
25	39.3(3.2)	25.7(1.8)	39.7(2.6)	31.7(4.4)

Dodecanol in DPL

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
30	41.8(3.5)	34.4(4.0)	41.5(4.7)	-
20	41.2(3.2)	32.6(3.3)	41.4(1.7)	-
10	41.0(2.3)	31.8(7.4)	40.8(1.4)	34.2(7.1)
12	41.1(2.1)	31.7(4.8)	41.1(1.5)	35.7(3.6)
32	42.3(3.1)	-	41.8(3.5)	-
10	41.0(2.6)	30.8(4.9)	41.0(2.1)	35.4(3.8)
14	41.2(3.3)	32.3(3.6)	40.8(2.0)	-
12	41.0(2.3)	31.8(4.3)	41.1(1.7)	35.6(3.2)
13	41.2(3.0)	31.1(2.7)	41.0(1.6)	-
15	41.1(2.9)	31.9(3.5)	41.3(1.3)	-
11	41.2(2.0)	32.1(3.3)	40.8(1.5)	35.5(3.1)
30	43.1(3.5)	-	42.4(3.6)	-
32	43.0(3.4)	-	42.1(2.8)	-
20	41.6(3.2)	33.3(2.9)	41.8(3.6)	-
24	42.1(4.0)	36.7(3.8)	42.0(2.6)	-
26	42.8(2.9)	37.3(1.7)	42.5(2.6)	-
22	41.6(3.3)	34.4(3.0)	41.8(2.1)	-
28	44.8/42.5 (0.7/1.6)	-	42.4(2.9)	-

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
26	42.1(2.6)	-	42.1(2.6)	-
24	41.8(3.3)	34.9(1.6)	41.8(1.8)	-
22	41.3(3.1)	34.2(1.6)	41.8(1.8)	-
25	41.8(3.7)	35.5(2.4)	42.0(2.4)	-
27	41.9(4.0)	-	42.0(4.2)	-
23	41.5(3.4)	34.8(2.6)	41.6(4.2)	-
10	40.5(2.4)	32.0(4.1)	40.9(1.6)	34.9(5.7)
20	40.9(2.8)	-	41.3(1.4)	37.1(3.3)
30	41.7(2.8)	-	42.0(3.2)	-
22	40.8(3.2)	32.8(3.1)	41.6(1.6)	-
28	41.7(1.6)	-	42.1(1.5)	-
26	41.4(3.2)	34.0(3.4)	41.8(1.8)	-
29	41.8(2.6)	-	42.2(1.8)	-
27	41.7(2.4)	-	41.9(2.1)	-
25	41.1(3.4)	34.2(3.0)	41.8(1.8)	-
12	40.7(2.3)	32.2(3.7)	41.0(1.4)	36.0(2.9)
14	40.8(3.0)	32.5(4.5)	41.1(1.6)	36.6(2.7)
16	41.0(2.7)	32.6(2.7)	41.2(1.4)	-
11	40.3(3.0)	31.3(3.6)	40.9(1.4)	36.2(3.2)
13	40.8(2.4)	32.5(3.8)	41.0(1.6)	36.4(2.5)
15	40.6(3.6)	31.5(4.0)	41.1(1.8)	-

Tridecanol in DPL

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
10	41.8(2.1)	-	41.3(5.9)	-
8	41.5(1.4)	30.7(5.0)	41.3(1.2)	31.4(6.9)
9	41.5(2.1)	32.3(4.7)	41.7(1.9)	34.4(4.4)
11	42.2(2.5)	-	41.0(6.4)	-

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
8	41.4(1.7)	33.3(3.3)	41.4(1.4)	31.7(7.1)
11	41.8(1.8)	35.5(2.0)	41.2(1.7)	-
7	41.4(1.8)	32.3(3.5)	41.4(1.5)	32.6(6.1)
9	41.7(1.8)	33.5(4.1)	41.3(1.8)	33.4(4.7)
12	41.5(2.6)	-	41.6(2.3)	-
14	42.1(1.9)	-	41.7(1.8)	-
10	41.5(2.1)	33.5(3.1)	41.6(2.2)	31.3(6.8)
13	41.8(1.8)	-	41.5(3.5)	-
11	41.5(2.3)	33.2(3.3)	41.6(1.9)	32.9(6.0)
10	41.4(2.8)	33.0(4.7)	41.4(1.3)	33.2(6.3)
12	41.7(2.3)	32.6(4.2)	41.5(3.6)	-
11	41.7(2.9)	32.9(4.6)	41.3(1.9)	34.7(7.5)
13	41.9(2.5)	33.2(3.9)	41.5(1.9)	-
14	41.7(2.3)	-	41.9(2.3)	-
9	41.4(2.2)	33.1(5.0)	41.2(2.1)	35.1(6.8)
15	41.6(2.2)	-	41.8(1.9)	-
11	41.7(2.5)	34.0(5.0)	41.0(1.8)	-
13	41.5(2.5)	-	41.9(2.9)	-
10	41.4(2.6)	33.2(4.3)	41.3(1.8)	34.9(7.5)
12	41.5(3.0)	32.8(5.0)	41.8(1.5)	-
11	41.8(2.5)	33.3(5.2)	41.2(1.7)	34.6(6.7)

Tetradecanol in DPL

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
6	41.6(2.3)	32.3(5.3)	41.7(1.4)	34.0(7.9)
8	42.2(2.0)	-	41.9(1.3)	34.7(7.5)
7	42.2(2.3)	32.7(4.3)	41.5(1.3)	33.3(8.1)
3	42.0(2.3)	-	42.2(1.7)	-

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
5	41.8(2.1)	32.6(5.4)	41.5(1.6)	33.1(6.1)
10	42.2(4.0)	-	42.1(1.7)	-
10	41.9(2.5)	-	42.1(1.8)	-
6	41.7(2.0)	32.6(5.4)	41.7(1.6)	35.1(7.4)
7	41.9(2.0)	34.6(5.0)	41.6(1.9)	35.3(5.6)
8	41.8(1.9)	-	41.8(1.7)	32.0(7.5)
9	41.8(2.8)	-	41.9(1.8)	35.1(3.2)
6	41.8(2.1)	32.2(3.6)	41.7(1.4)	35.3(5.8)
10	41.7(2.9)	-	42.2(1.6)	-
7	41.8(2.2)	32.3(4.0)	41.7(1.6)	34.4(5.2)
9	42.0(2.5)	-	41.8(1.5)	34.1(4.9)
10	41.9(3.3)	-	42.0(1.4)	35.2(5.9)
8	42.0(2.2)	-	41.7(1.4)	35.1(4.8)
11	42.0(3.7)	-	42.2(1.7)	-
10	41.8(2.9)	-	41.8(1.6)	-
5	41.2(2.5)	32.5(5.9)	41.7(1.7)	34.8(8.1)
7	41.7(2.5)	32.3(4.9)	41.7(2.0)	34.3(6.4)
9	41.6(2.7)	-	41.8(2.3)	34.6(7.1)
11	41.8(3.1)	-	42.0(1.8)	-
4	41.1(2.5)	32.2(6.4)	41.3(2.0)	33.6(8.5)
6	41.6(2.6)	32.6(6.8)	41.6(1.9)	35.3(8.1)
8	41.6(2.5)	31.2?(5.1)	41.9(1.8)	34.5(6.9)
12	41.8(3.6)	-	42.1(2.0)	-
7	41.7(2.6)	33.8(5.5)	41.7(2.1)	35.7(7.6)
10	41.7(3.7)	-	42.2(2.0)	-
16	42.3(4.0)	-	42.2(4.2)	-

Pentadecanol in DPL ; a) mit 1% NPN

%	T_H	T_V	T_H	T_V
		↓		↑
5	41.3(2.0)	31.0(3.6)	41.5(1.7)	34.4(7.7)
8	42.0(2.1)	31.0(3.8)	41.8(1.7)	34.7(7.3)
7	41.7(3.0)	31.3(4.1)	42.0(1.7)	33.7(5.3)
6	41.8(2.9)	-	41.8(1.7)	35.0(5.5)
6	41.8(2.0)	31.0(2.7)	41.8(1.9)	32.9(6.3)
4	41.6(2.2)	31.1(4.7)	41.5(1.6)	33.7(4.8)
4	41.5(2.3)	32.1(5.5)	41.3(0.9)	33.4(4.3)
6	41.8(1.9)	31.1(2.5)	41.9(2.1)	34.3(5.7)
10	41.9(2.3)	-	42.1(1.9)	35.1(3.0)
8	41.7(2.4)	31.4(5.2)	41.8(1.7)	34.2(6.7)
10	41.6(2.5)	31.0(3.0)	41.8(2.1)	34.2(4.9)
12	41.6(3.4)	30.1(4.6)	42.1(2.2)	33.9(3.8)
14	41.7(4.8)	30.4(3.7)	41.8(2.1)	34.6(3.2)
15	41.6(3.0)	31.2(3.6)	42.1(2.1)	34.1(4.9)
10	41.9(4.3)	31.3(3.4)	41.9(2.2)	34.6(3.7)
5	41.5(2.2)	31.5(5.4)	41.8(1.7)	34.8(5.8)
7	42.2(2.2)	33.0(6.2)	41.7(1.9)	35.2(4.1)
9	41.6(2.5)	31.2(4.1)	42.1(1.9)	34.6(5.2)
11	41.6(2.7)	31.3(2.3)	41.8(2.3)	34.5(5.2)
13	41.6(2.5)	-	42.1(1.8)	34.9(3.3)
15	41.9(3.7)	-	41.9(2.1)	34.1(5.1)
20	42.0(2.1)	-	inst. 41.9(1.9?)	35.5(4.0?)
40 inst.	41.5(2.6)	-	inst. 42.0?(1.9?)	34.9?(4.2?)
30	42.0(4.4)	31.8(~1.5)	inst. 42.0?(1.8)	36.0?(5.4?)
30 inst.	41.4(2.9)	30.4(~2.4)	inst. 42.1(~1.9)	34.1(5.6?)
20	41.6(3.4)	30.9(5.7)	inst. 41.7(2.4?)	35.1(4.5?)
12	42.2(2.3)	-	41.6(1.7)	35.0(3.4)
10	42.0(3.3)	-	42.2(1.9)	32.6?(6.1?)
6	41.9(1.6)	-	41.7(1.6)	34.1(5.1)
4	41.5(2.3)	31.8(4.5)	41.7(1.6)	33.2(6.3?)

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
5	41.7(1.7)	-	41.8(1.7)	34.7(5.8)
8	41.5(2.5)	30.6(3.3)	42.0(2.0)	34.5(4.8)
4	41.6(2.1)	31.8(5.0)	41.5(1.9)	35.3(5.0)
2	41.4(1.2)	31.5(5.3)	41.4(1.4)	33.4(3.7)
6	41.8(2.0)	30.8(3.4)	41.7(2.3)	33.8(5.6)
8	41.4(2.8)	30.1(3.2)	42.1(2.4)	34.9(6.5)
10	41.6(2.9)	30.4(2.5)	41.8(1.8)	34.5(5.1)
12	41.5(2.5)	30.8(2.7)	41.8(2.3)	35.2(4.2)
14	41.6(3.0)	30.6(3.0) inst.	41.5(1.9?)	35.1(4.9)
16	41.5(2.9)	30.6(2.6) inst.	42.1(2.1?)	34.7(5.1?)
20	41.6(2.0)	31.2(2.7) inst.	41.0(1.7)	35.5(4.3)
30 inst.	41.4(2.4)	30.6(2.6?) inst.	41.9(1.8)	35.5(4.1)
10	41.5(2.7)	30.6(4.7)	41.8(2.2)	33.9(4.2)
5	41.4(2.3)	31.1(5.6)	41.5(1.9)	35.4(5.1)
20	41.4(2.6)	30.6(3.6) inst.	41.8(2.0?)	35.1(4.0)
15	41.3(3.7)	30.2(5.1) inst.	42.0(1.8?)	35.7(2.9?)
30 inst.	41.3(3.4)	30.8(3.7) inst.	41.6(1.7)	34.9(5.4)
25 inst.	41.1(3.2)	31.0(4.0?) inst.	42.0(2.0?)	35.3(5.3)

b) Pentadecanol in DPL mit 1% NPN

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
20	40.4(4.4)	-	inst. 41.6?(2.6?)	-
10	40.9(3.8)	-	41.5(2.8)	-
8	40.7(3.8)	-	41.4(2.7)	34.0(6.4)
6	41.0(3.7)	31.3(7.6)	41.0(2.5)	33.9(6.2)
7	41.1(2.7)	30.3(7.5)	41.2(2.5)	33.6(5.8)
9	41.0(4.1)	-	41.1(3.2)	34.1(4.4)
11	40.8(4.7)	-	41.6(4.3)	-

Hexadecanol in DPL ; a) mit 1% NPN

	T_H	T_V	T_H	T_V
		↓		↑
20	41.8(3.7)	31.8(3.1)	42.1(2.8)	34.1(5.6)
10	41.2(1.8)	31.0(5.4)	41.2(1.2)	33.1(6.5)
12	41.2(1.6)	30.9(4.3)	40.8(0.9)	32.2(5.8)
15	41.6(3.0)	-	42.3(2.2)	35.0(3.1)
14	41.9(2.8)	-	42.3(2.7)	35.3(3.3)
12	41.7(2.4)	-	42.2(2.3)	35.2(3.5)
10	41.7(2.1)	31.5(5.3)	42.0(1.7)	35.2(5.7)
8	41.3(1.3)	31.7(4.6)	41.3(1.3)	33.3(5.5)
9	41.6(2.1)	30.2(5.0)	41.7(1.4)	34.9(6.6)
10	41.3(2.9)	30.5(3.6)	inst. 41.6?(2.1?)	33.5(6.5?)
11	41.4(2.4)	30.4(4.2)	inst. 41.7?(1.8?)	34.0?(6.7?)
14	41.6(2.2)	30.9(4.4)	inst. 41.4?(2.3?)	34.3(5.0)
20	41.3(2.4)	30.7(4.0)	inst. 41.5?(2.3?)	34.6(4.2)
30	inst. 41.6(2.4)	30.4(4.4?)	inst. 41.4?(2.1?)	34.0(5.9?)
40	inst. 41.7(2.1?)	30.7(3.9?)	inst. 41.3?(2.4?)	34.4?(5.9?)
50	inst. 41.3(2.0?)	30.2(4.3?)	inst. 41.5(1.9?)	34.1(5.3)
5	41.3(2.5)	31.0(6.1)	41.2(2.0)	34.7(6.5)
10	41.1(2.9)	30.3(5.3)	41.5(2.1)	34.6(7.1)
30	40.9(2.6)	30.3(3.3)	inst. 41.4(1.9?)	34.6(4.6)
15	41.5(3.9)	30.7(2.9)	inst. 42.1(3.2)	36.2(2.1?)
10	41.3(3.5)	30.8(3.7)	42.1(3.1)	35.0(3.9)
8	41.6(3.7)	30.2(5.3)	41.7?(2.3)	34.9?(3.8)
11	41.4(3.8)	31.3(4.1)	42.2(3.1)	35.6(3.9)
13	41.5(3.7)	30.6(4.9)	42.1(3.1)	35.4(3.0)
16	41.4(4.2)	30.4(5.0)	42.2(4.5)	36.2(3.8)
30	inst. 41.5(5.1?)	32.0(4.6?)	inst. 41.8(3.0)	34.6(6.9)

b) Hexadecanol in DPL mit 1% NPN

%	T_H	T_V	T_H	T_V
0	41.5(1.1)	29.5(7.5)	40.7(1.1)	32.1(7.8)
13	40.5(3.8)	29.2(6.2)	inst. 40.9(2.7?)	31.7(7.6)
15	40.7(3.7)	29.1(5.5)	40.5(2.3)	31.5(5.6)
17	40.5(3.6)	30.2(4.3)	41.0(2.8)	31.8(6.4)
19	40.6(3.7)	29.7(6.3)	40.7(2.5)	31.7(5.9)
25	40.4(3.8)	29.4(5.0)	40.9(2.0)	31.8(6.9)
25	40.5(3.4)	29.6(5.1)	inst. 40.5?(2.6?)	31.9(5.6?)
25	40.2(4.7)	32.5?	inst. 40.6(3.2?)	30.4(5.6)

(Dach)

c) Hexadecanol in DPL mit 5% NPN

%	T_H	T_V	T_H	T_V
16	40.9(2.1)	29.5(8.2)	40.2(1.4)	32.5(4.6)
18	40.7(5.2)	28.3(8.4)	40.1(3.7)	29.7(10.5)
20	41.4(2.6)	30.8(9.2)	41.3(2.0)	34.1(11.0)
22	41.1(12.3)	-	40.5(10.7)	-
24	42.5(15.1)	-	42.3(13.2)	-

d) Hexadecanol in DPL mit 1% ANS

%	T_H	T_V	T_H	T_V
0	40.6(1.7)	28.5(6.2)	41.2(0.8)	31.7(6.8)
10	43.4(3.6)	-	42.3(5.3)	-
8	41.1(1.5)	29.6(4.9)	40.5(1.5)	31.6(6.6)

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
9	41.5(1.7)	30.3(5.4)	40.9(1.4)	32.2(6.6)
11	42.7(2.1)	-	43.1(2.0)	-
12	43.3(2.8)	-	43.0(3.0)	-

Octadecanol in DPL ; a) mit 1% NPN

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	41.3(1.6)	30.7(4.3)	41.1(1.0)	33.1(5.6)
30	41.4(3.0)	30.7(2.2)	41.4(2.9)	33.7(5.9)
40 inst.	41.4(2.2)	31.3? (2.5?)	inst. 40.8(1.9?)	33.0.(3.7?)
20 inst.	41.1(1.5)	30.8(3.7?)	inst. 41.1(1.6?)	31.9(3.8)
60 inst.	41.1?(1.1?)	30.6?(3.0)	inst. 41.1?(1.5?)	31.7?(2.4?)
10	41.3(2.2)	30.4(4.5)	41.0(1.6)	32.4(4.6)
15	41.3(1.6)	30.8(3.7)	inst. 40.8(1.2)	32.6?(5.0?)
30 inst.	41.2(1.5)	30.0? (4.2?)	inst. 41.1(0.9?)	32.5(4.7)

b) Octadecanol in DPL mit 5% ANS

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
0	41.3(1.0)	31.0(3.1)	41.0(0.5)	34.7(1.2)
12	42.6(1.7)	-	42.7(2.5)	-
10	42.9(1.6)	-	42.9(2.6)	-
8	42.8(1.5)	-	42.9(2.1)	-
7	42.4(1.3)	32.1(3.2)	42.3(1.9)	-
6	42.5(1.6)	-	42.4(2.2)	-

%	T_H	T_V	T_H	T_V
5	42.4(1.4)	32.4(3.4)	42.1(2.1)	-
4	41.3(1.2)	31.6(3.4)	41.1(1.1)	32.3(5.5)
6	42.1(1.6)	32.4(3.5)	41.9(1.9)	-
5	42.2(1.5)	31.6(4.4)	41.8(1.5?)	-
3	41.2(1.5)	30.6(3.3)	41.0(1.3)	31.6(4.3)
7	42.5(1.2)	-	42.7(3.2)	-

Eicosanol in DPL ; a) mit 1% NPN

%	T_H	T_V	T_H	T_V
20	41.3(1.6)	31.4(3.7)	inst. 41.1?(2.1?)	32.9?(5.4?)
10	41.2(1.5)	30.3(4.5)	inst. 40.8(1.4)	31.4(5.1)
20	41.2(1.7)	30.3(3.8)	inst. 41.1(1.4)	31.7?(6.6?)
30	41.4(1.5)	30.6(3.5)	inst. 40.9(1.2)	31.6?(4.3?)
40 inst.	41.0(2.0)	30.7(3.5?)	inst. 41.2(1.6)	31.2(4.3)
60 inst.	41.1(1.4)	30.2(3.5?)	inst. 40.9(0.8)	30.5?(3.6?)

b) Eicosanol in DPL mit 5% ANS

%	T_H	T_V	T_H	T_V
8	41.5(0.8)	31.1(2.3)	41.2(1.1)	32.0(4.7)
16	42.2(1.6)	30.9(2.4)	inst. 41.8(2.3)	33.0?(4.7?)
10	41.8(1.6)	31.0(3.4)	41.4(1.1)	31.1(3.9)
12	41.4(1.5)	31.4(2.9)	41.1(1.2)	31.9(3.9)
14	41.6(1.8)	31.1(2.8)	41.5(2.3)	30.0(3.7)
16	41.7(0.7)	31.2(2.5)	41.9(2.1)	30.5(3.9)
12	41.7(1.6)	31.1(3.4)	41.6(2.1)	28.7(5.5?)

%	$\downarrow$		$\uparrow$	
	T_H	T_V	T_H	T_V
20 inst.	41.7(1.7)	31.0(1.8)	inst. 41.9(2.3)	?
10	41.7(~0.5)	30.9(~1.9)	42.0(1.3)	31.2(4.0)
10	41.4(1.2)	31.0(2.5)	41.1(0.9)	32.0(6.1)
12	41.7(0.7)	31.0(2.7)	41.8(1.5)	30.9(5.9)
14	41.7(0.3)	31.4(2.6)	41.7(1.4)	31.0(4.6)
16	42.2(1.2)	31.2(3.0)	42.0(1.4)	30.6(4.2)
20	41.6(0.7)	31.0(1.8)	42.0(1.5)	31.8(4.4)
30 inst.	42.7(0.9)	30.9?(1.7?)		

1.2.2. Z-9-Tetradecenol in DPL

%	$\downarrow$		$\uparrow$	
	T_H	T_V	T_H	T_V
10	33.8(3.5)	28.3(5.4)	39.2(2.6)	31.2(6.9)
20	37.0(4.2)	27.7(3.8)	36.4(7.2)	-
25	36.4(3.5)	-	35.5(6.7)	-
15	37.9(3.4)	28.3(4.0)	38.4(2.2)	31.7(2.9)
24	36.3(4.4)	-	35.4(6.6)	-
16	37.5(3.9)	27.8(4.2)	38.2(1.9)	31.0(4.3)
22	35.5(4.9)	27.6(3.3)	34.3(7.3)	-
18	37.4(3.8)	28.1(3.5)	36.7(6.6)	-
26	36.1(3.8)	-	35.5(5.9)	-
14	38.0(4.2)	28.5(5.1)	38.5(1.8)	31.2(4.2)
23	36.7(4.3)	27.3(4.1)	36.6(7.3)	-
17	37.8(3.4)	27.9(3.4)	38.4(2.7)	31.5(4.0)
21	36.7(3.6)	27.4(3.4)	36.3(6.1)	-
19	37.4(3.9)	28.4(3.4)	36.6(6.4)	-
27	35.3(7.1)	-	34.8(5.9)	-
13	38.5(3.8)	28.8(5.2)	38.3(2.0)	31.2(3.0)
12	38.3(3.6)	28.6(5.1)	38.8(1.8)	32.1(2.4)

1.2.3. E-9-Tetradecenol in DPL

%	T_H	T_V	T_H	T_V
10	40.2(1.2)	-	40.6(0.9)	36.4(3.4)
20	39.8(3.0)	-	inst. 39.9?(1.3?)	-
5	40.6(1.3)	31.9(6.8)	40.8(1.5)	35.4(3.3)
12	40.2(2.1)	-	40.3(1.0)	35.9(3.6)
10	40.2(1.6)	32.0(6.0)	40.6(1.0)	36.3(3.4)
14	40.2(1.2)	-	40.4(0.9)	-
16	40.3(1.4)	-	40.4(2.0)	-
11	40.3(2.0)	-	40.5(0.6)	36.3(3.3)
13	40.3(2.3)	-	40.5(0.6)	-
15	40.1(1.0)	-	40.5(0.7)	-
11	40.3(1.2)	-	40.5(1.0)	36.4(3.7)
9	40.0(2.5)	32.1(5.2)	40.5(0.8)	35.3(3.9)
12	40.2(1.6)	-	40.3(3.4)	-
10	40.4(1.3)	-	40.4(1.0)	35.5(3.5)
8	40.5(1.5)	30.9(6.2)	40.8(1.1)	35.6(4.2)
40	40.3(3.1)	-	40.7(2.7)	-
50	40.1(3.3)	-	40.7(3.3)	-
60	40.9(3.1)	-	41.2(3.6)	-

1.2.4. Z-9,Z-11-Tetradecadienol in DPL

%	T_H	T_V	T_H	T_V
10	40.1(1.7)	30.2(4.5)	40.0(7.7)	-
20	38.9(3.5)	-	39.3(3.4)	-
30	39.0(3.7)	-	39.4(4.6)	-
15	39.0(5.6)	-	39.2(4.9)	-
12	39.7(1.9)	30.6(5.1)	39.6(5.4)	-
6	40.2(2.4)	31.0(6.3)	40.6(1.5)	34.5(4.2)

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
14	39.7(2.7)	31.1(4.5)	39.4(4.8)	-
7	40.0(2.3)	31.1(4.9)	40.6(1.1)	34.3(3.8)
15	39.4(2.7)	-	38.7(4.4)	-
9	40.1(2.1)	30.5(5.6)	39.3(5.7)	-
8 inst.	40.0?(1.5?)	29.6?(5.5)	40.5(1.2)	34.4(3.8)
11	40.1(2.5)	31.6(6.2)	39.1(6.1)	-
10	39.9(2.2)	30.7(6.1)	39.8(6.9)	-
17	39.5(3.0)	-	39.0(5.8)	-
16	39.6(3.0)	-	39.3(4.5)	-
8	39.9(2.8)	30.6(6.1)	40.6(1.1)	34.4(3.8)
15	39.7(2.2)	-	39.5(4.4)	-

1.2.5. Z-9-Tetradecenylacetat in DPL

%	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
10	38.0(2.6)	28.4(3.8)	39.1(≈1.4)	30.7(4.9)
20	36.6(1.8)	26.6(5.1)	37.3(≈1.6)	29.0(3.2)
30	34.8(4.0)	-	34.0(5.5)	-
32	34.2(2.3)	-	34.5(1.2)	-
25	35.6(2.0)	28.4(≈0.6)	35.8(1.1)	-
15	37.6(≈2.0)	26.6(5.1)	37.1(≈1.2)	28.7(3.2)
28	36.0(1.9)	28.4(1.4)	36.2(0.7)	-
22	36.6(≈2.6)	28.7(1.8)	36.2(1.6)	29.4(2.0)
24	35.7(≈1.9)	28.9(1.7)	36.3(≈1.4)	-
26	35.0(1.9)	-	36.5(≈1.1)	-
21	36.4(≈1.6)	27.5(2.8)	36.2(1.5)	29.0(3.0)
23	36.9(1.3)	27.8(3.6)	36.7(1.4)	-
25	36.2(2.2)	-	35.7(1.2)	-
27	36.2(2.3)	-	36.9(≈1.6)	-
29	35.2(1.8)	-	35.2(1.7)	-

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
40	34.6(3.0)	-	33.8(Dach)	-
60	35.5(Dach)	-	36.9(2.2)	-
50 invers	31.5(≈0.6)	-	35.0(≈2.2)	-
45	32.2(Dach)	-	34.5(1.1)	-
75 invers	32.5(3.2)	-	invers 33.1(3.5)	-
90 invers	34.5(4.3)	-	invers 32.2(4.8)	-
22	36.7(1.2)	28.1(3.4)	36.5(2.2)	28.9(3.1)
27	36.1(3.1)	-	35.7(2.6)	-
29	34.7(2.3)	27.5(2.4)	35.3(1.5)	-
31	34.8(3.0)	-	35.2(1.2)	-
24	35.6(3.2)	-	35.9(1.0)	-
28	35.9(2.1)	-	35.2(1.4)	-
21	37.6(3.3)	27.2(4.2)	37.2(≈1.2)	29.1(3.6)
26	36.2(1.7)	-	35.9(0.9)	-
22	36.6(2.2)	26.1(5.1)	35.5(1.4)	28.8(2.6)
25	35.4(1.6)	-	35.8(1.2)	-

1.2.6. E-9-Tetradecenal in DPL

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	40.1(2.5)	31.3(5.4)	40.3(1.8)	35.3(4.9)
20	39.3(4.1)	-	39.0(5.9)	-
30	38.6(3.8)	31.0(3.8)	39.0(5.1)	-
15	40.1(1.4)	-	39.4(6.0)	-
12	39.9(2.2)	31.0(3.8)	40.0(1.5)	35.5(3.0)
11	40.2(2.7)	32.1(5.7)	40.1(1.1)	34.9(3.3)
13	39.9(2.2)	31.4(4.3)	40.1(1.1)	35.1(2.8)
10	40.2(1.8)	32.3(5.3)	40.3(1.3)	35.8(2.9)
14	39.8(2.9)	31.8(5.0)	39.5(4.2)	-

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
9	40.3(1.7)	31.2(6.1)	40.4(1.0)	35.1(2.6)
15	39.5(3.7)	-	39.2(4.8)	-
12	40.0(2.3)	31.6(5.9)	40.3(1.3)	35.8(2.6)
16	39.3(4.3)	-	39.2(4.1)	-

1.2.7. Z-11-Hexadecenol in DPL

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	39.5(3.5)	-	38.9(4.6)	-
20	38.6(4.0)	-	38.8(4.5)	-
30	38.8(4.0)	-	38.7(4.5)	-
8	39.7(3.7)	30.3(4.8)	39.2(5.6)	-
6	40.2(1.7)	-	40.3(1.4)	35.2(3.5)
4	40.4(1.6)	31.3(6.0)	40.6(1.6)	35.5?(2.4?)
5	40.3(1.6)	31.4(6.6)	40.6(1.4)	35.7(3.4)
9	39.5(4.3)	30.5(4.3)	38.5(6.8)	-
3	40.8(1.4)	31.1(6.6)	40.5(1.3)	34.7(3.9)
7	40.0(3.0)	29.8(4.7)	39.0(5.8)	-
10	39.6(3.2)	-	38.6(6.4)	-
12	39.3(3.6)	-	38.8(5.5)	-

1.2.8. E-11-Hexadecenol in DPL

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	40.3(1.4)	29.2(5.1)	40.7(2.0)	33.4(4.6)
20	40.1(1.7)	29.6(5.9)	40.5(1.9)	33.8(4.4)
30	40.0(1.6)	29.4(5.3)	40.4(1.2)	33.7(2.7)

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
40	40.2(1.9)	29.2?(4.5?)	40.5(1.7)	34.3(2.1)
50	39.7(3.7)	29.4(5.3)	40.4(0.8)	33.5(2.4)
60	39.6(3.6)	29.1(2.9)	39.1(6.9)	-
55	39.7(3.5)	29.1(4.3)	38.6(7.6)	-
75	39.6(3.3)	30.1(2.5)	39.5(6.6)	-
90	39.2(3.1)	30.3(3.1)	39.1(7.1)	-
60	39.6(3.7)	30.0(2.4)	38.7(7.2)	-
100	39.7(3.4)	-	39.7(5.7)	-
120	39.8(2.8)	-	40.0(6.0)	-
50	39.9(3.4)	29.6(4.2)	40.9(0.8)	34.2(2.5)

1.2.9. Z-11,Z-13-Hexadecadienol in DPL

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	41.0(2.4)	-	40.2(4.6)	-
20	40.8(4.0)	-	41.1(4.9)	-
30	40.7(4.7)	-	41.6(4.8)	-
10	41.1(3.5)	-	40.6(5.1)	-
8	41.1(2.0)	31.9(4.4)	41.2(1.2)	35.9(3.1)
6	40.9(2.1)	32.1(6.0)	41.2(2.0)	35.5(3.5)
11	40.8(3.6)	-	40.6(5.0)	-
9	41.1(4.2)	-	40.1(6.0)	-
7	40.9(2.6)	31.6(5.8)	41.1(1.7)	35.5(3.5)
5	40.8(1.8)	32.0(6.6)	41.2(1.1)	35.8(4.6)
12	40.9(3.1)	-	40.6(6.6)	-
3	41.0(1.3)	32.0(6.6)	41.0(1.4)	35.5(4.5)
1	40.8(1.4)	30.8(7.3)	41.2(1.4)	34.7(4.9)

1.2.10. Z-13-Octadecenol in DPL

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	39.7(3.6)	29.5(4.1)	40.4(2.0)	32.7(6.3)
20	39.8(3.6)	28.8(3.7)	40.4(1.6)	34.3(2.7)
30	39.6(2.4)	28.1(4.6)	38.2(7.5)	-
15	39.7(2.9)	29.3(2.9)	40.2(1.5)	33.8(7.1)
25	39.9(3.0)	27.4(5.1)	39.4(3.1)	32.8(8.5)
40	40.0(2.0)	28.0(2.4)	38.0(8.7)	-
50	39.4(2.5)	-	40.3(2.3)	32.3(5.2)
60	39.7(2.6)	-	39.9(2.2)	32.6(4.7)
75 inst.	38.9(3.8)	27.1?(5.6?)	39.9(2.7)	34.1(2.4)
90	39.5(2.5)	-	40.2(2.2)	34.2(1.8)
80	39.0(2.5)	28.7(1.8)	39.1(3.1)	-
95	39.3(2.8)	28.3(1.3)	39.5(2.6)	33.5(1.0)
120	39.0(2.3)	29.2(4.0)	39.7(3.3)	-
100	39.1(3.3)	28.6(2.3)	39.8(3.8)	33.5(2.8)
130	39.4(2.1)	-	39.4(1.5)	-
125	39.2(2.6)	-	39.5(2.5)	-
115	39.5(2.3)	-	40.0(2.4)	-
105	39.2(3.3)	29.7(2.2)	39.3(2.5)	-

1.2.11. Z-13-Octadecenylacetat in DPL

%	↓		↑	
	T _H	T _V	T _H	T _V
10	40.3(3.0)	29.9(3.6)	41.1(2.2)	32.8(6.1)
20	40.0(3.2)	29.6(4.0)	41.1(2.4)	32.0(6.6)
40	40.7(±0.8)	35.3(±1.1)	41.1(±0.6)	-
60 invers	39.2(2.1)	-	invers 40.0(1.3)	-
50 invers	39.3(1.0)	-	invers 39.7(0.8)	33.8(1.6)
35 invers	40.7(±0.3)	32.1(±0.9)	41.3(±0.3)	-

%				
	T_H	T_V	T_H	T_V
45	invers 38.5(1.2)	31.5(1.9)	invers 39.6(1.4)	-
55	invers 39.5(1.4)	-	invers 40.0(1.0)	-
65	invers 39.2(2.4)	-	invers 39.4(1.7)	34.0(2.6)
25	40.5(0.9)	-	41.1(0.5)	35.2(2.9)
15	39.9(3.9)	29.4(2.8)	40.6(2.1)	32.6(5.3)
30	invers 40.7(0.7)	32.2(1.1)	41.1(0.5)	-

1.2.12. Z-13-Octadecenal in DPL

%				
	T_H	T_V	T_H	T_V
10	40.5(2.2)	29.7(5.8)	40.8(1.3)	35.0(3.2)
20	40.2(2.5)	29.2(6.6)	41.0(1.0)	35.2(3.2)
30	40.4(2.9)	29.4(6.6)	40.8(1.4)	35.3(3.4)
40	40.3(2.0)	30.1(4.3)	41.0(1.1)	35.9(2.8)
50	40.5(2.4)	30.2(5.3)	40.9(0.9)	35.1(3.0)
60	40.3(2.2)	29.8(4.7)	41.0(1.0)	36.2(3.3)
80	40.6(2.4)	-	41.2(1.0)	36.7(1.9)
120	40.7(2.1)	-	41.1(1.1)	37.1(1.5)
75	40.4(2.6)	-	41.0(1.3)	-
60	40.5(2.3)	30.6(3.3)	40.9(1.3)	36.1(3.5)
90	40.5(2.4)	-	41.0(1.9)	-
65	40.6(2.0)	29.3(4.5)	40.9(1.8)	35.2(5.5)
80	40.6(2.4)	-	41.1(2.0)	-
70	40.5(2.5)	30.8(3.5)	41.0(1.1)	35.5(3.8)
85	40.5(2.4)	30.3(3.5)	41.1(1.3)	-
85	40.5(2.5)	30.2(3.9)	41.1(1.4)	-
95	40.6(2.2)	-	41.1(1.5)	-
85	40.6(2.3)	-	41.1(1.5)	-
75	40.4(2.2)	-	41.3(1.7)	-
65	40.5(2.6)	30.7(4.0)	40.9(0.9)	-

γ_0	T_H	T_V	$T_{H\bar{H}}$	T_V
75	40.6(1.9)	30.5(3.0)	40.8(1.3)	36.5(2.2)
85	40.6(1.8)	-	41.1(1.0)	-
95	40.5(2.6)	30.2(5.1)	40.9(1.2)	-
45	40.6(2.1)	30.3(4.0)	40.9(1.1)	35.4(3.5)
95	40.4(2.2)	30.3(3.2)	41.1(1.1)	-
50	40.5(2.4)	30.7(4.5)	41.0(1.0)	35.8(3.2)
70	40.6(2.1)	-	41.0(1.1)	-
60	40.4(2.8)	30.3(4.7)	41.0(1.1)	-
80	40.6(2.3)	-	41.2(1.3)	-
95	40.4(2.2)	31.0(4.0)	41.0(1.0)	-
45	40.5(1.9)	30.1(3.5)	41.0(1.2)	36.0(4.5)
65	40.5(2.3)	-	41.0(0.9)	-
50	40.6(2.4)	30.7(4.2)	41.0(1.1)	36.0(2.7)
75	40.5(2.4)	-	41.1(1.1)	-
55	40.6(2.3)	30.6(3.6)	41.1(1.0)	-
45	40.5(2.6)	30.2(3.7)	41.1(1.2)	-
40	40.5(2.0)	30.8(2.3)	40.9(1.0)	35.6(2.6)
60	40.4(1.9)	29.9(2.5)	41.0(1.3)	36.5(2.1)
64	40.5(1.9)	30.7(1.6)	41.1(0.9)	-
80	40.4(2.1)	-	41.1(1.1)	-
70	40.5(2.5)	-	41.1(1.3)	-
60	40.2(2.7)	30.8(4.3)	41.1(1.1)	-
50	40.5(2.0)	-	41.1(1.1)	-
40	40.4(2.5)	30.6(4.5)	41.1(1.1)	35.6(2.5)

1.3. DSL als Matrix

1,2-Distearoyllecithin wurde nicht so systematisch vermessen wie DML und DPL. Die Untersuchung beschränkt sich auf einige NPN-Leerkurven sowie einige wenige verschiedene Konzentrationen an Decanol, Tetra- und Hexadecanol bei zwei verschiedenen Lecithinkonzentrationen. Die Maxima der Fluoreszenzabsorptions- und -emissionsspektren zeigen die gleichen Werte wie in DML und DPL und auch die Vorumwandlung ist bis zu bestimmten kritischen Alkoholkonzentrationen vorhanden, d. h. auch mit DSL treten Fluoreszenzkurven der Typen HV und H auf. Die folgenden drei Tabellen geben die Phasenumwandlungstemperaturen und -breiten der NPN-Leerkurven sowie mit diversen Konzentrationen (% R-OH) der erwähnten Alkanole an.

1.3.1. NPN-Leerkurven von $1,25 \cdot 10^{-4}$ m DSL

% NPN	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
0.5	53.6(2.0)	44.5(5.8)	53.3(2.3)	48.9(2.4)
1	53.5(2.0)	44.7(5.4)	53.8(2.4)	48.9(3.1)
1	53.5(2.1)	45.1(2.5)	54.0(1.9)	48.9(2.2)
1	53.6(2.6)	45.0(2.7)	53.5(2.0)	48.3(2.5)
3	53.5(2.4)	43.4(6.9)	53.9(2.2)	48.8(2.7)

1.3.2. Tetradecanol in $6.25 \cdot 10^{-5}$ m DSL und 1% NPN

% R-OH	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
0	53.8(3.2)	45.2(3.5)	53.3(1.8)	48.7(1.1)
3% 14-OH	54.0(2.6)	-		
5% "	53.8(3.0)	-	53.4(4.1)	-
10% "	54.1(3.6)	-	53.0(4.7)	-
20% "	53.9(4.4)	-	54.4(4.4?)	-

1.3.3. Alkohole in $1.25 \cdot 10^{-4}$ m DSL und 1% NPN

% R-OH	↓		↑	
	T_H	T_V	T_H	T_V
1% 14-OH	53.9(2.0)	-	inst. 53.4(2.0)	-
2% "	53.5(2.3)	-	inst. 54.0(2.2)	-
1% 16-OH	53.4(2.7)	44.3(5.1)	53.7(1.9)	49.0(2.1)
2% "	53.5(2.6)	-	inst. 53.6(5.7)	-
2% 10-OH	53.3(2.8)	43.8(7.1)	53.3(1.9)	48.4(2.4)
5% "	53.3(2.4)	43.7(5.2)	53.4(2.1)	48.2(2.2)
20% "	52.1(3.4)	41.3(5.3)		
30% "	51.9(3.8)	41.1(4.8)	51.3(3.2)	43.4(5.6)
40% "	50.8(4.5)	40.0(2.6)	51.4(4.0)	43.7(2.4)
60% "	49.7(4.6)	-	48.9(4.7)	-

1.4. Lecithingemische

Zwei oder drei Lecithine werden gemeinsam in Phosphatpuffer dispergiert und vermessen. Die Gesamtlecithinkonzentra-

tion beträgt $1,25 \cdot 10^{-4}$ m mit 1% NPN als Fluoreszenzindikator. In der ersten Spalte der beiden Tabellen ist das Mischungsverhältnis der Lecithine angegeben.

Bei Mischungen aus allen drei Lecithinen tritt für keine der Komponenten mehr die Vorumwandlung auf (Tab. 1.4.2., S. 179).

Das Foto der Abbildung 22 (S. 178) zeigt Fluoreszenzkurven der Mischungen DSL : DPL : DML im Verhältnis 5 : 2 : 1 (obere Kurve) und 8 : 3 : 1 (untere Kurve). Daraus ist zu ersehen, daß die Hauptumwandlungen der Mischung etwa bei den gleichen Temperaturen liegen wie für die einzelnen separaten Lecithine.

1.4.1. Gemische aus zwei Lecithinen

Lecithinverhältnis		
	T_H	T_V
1 DSL : 1 DPL	54.0/41.3(1.0/1.4)	46.5/31.2(1.1/2.5)
3 DSL : 2 DPL	53.6/41.0(1.4/2.1)	46.6/30.1(2.9/3.8)
4 DSL : 1 DPL	53.9/40.9(1.2/1.9)	- /30.2(- /2.7)
8 DSL : 1 DML	53.6/23.4(1.6/2.3)	-

Lecithinverhältnis		
	T_H	T_V
1 DSL : 1 DPL	53.6/40.9(1.8/1.4)	44.4/33.4(1.4/3.4)
3 DSL : 2 DPL	54.5/41.0(1.1/2.4)	48.1/34.2(2.8/2.8)
4 DSL : 1 DPL		
8 DSL : 1 DML	53.3/23.2(5.6/1.0)	-

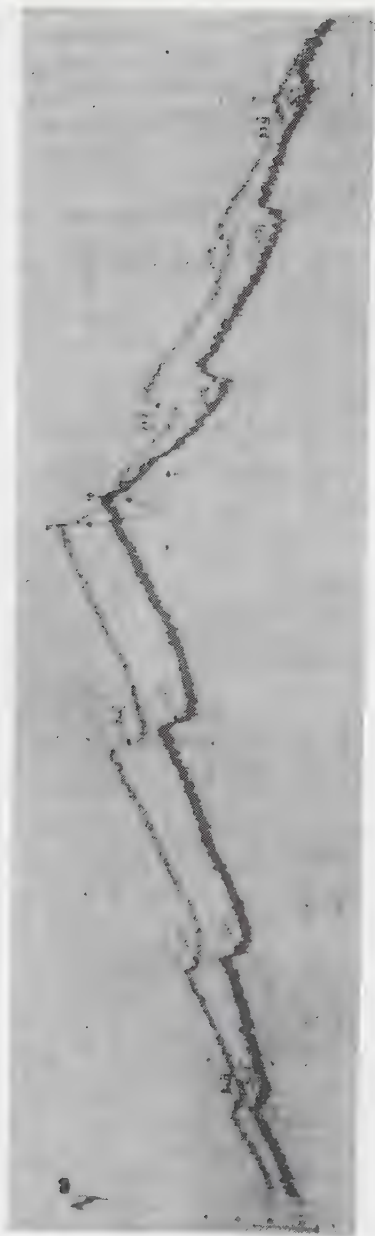


Abb. 22: Fluoreszenzkurven von Lecithingemischen
(vgl. Tab. 1.4.2., S. 179).

1.4.2. Gemische aus drei Lecithinen

Lecithinverhältnis

T_H ↓

DSL : DPL : DML	DSL	DPL	DML
2 : 3 : 1	53.7(0.5) /	41.2(1.7) /	23.9(1.6)
4 : 3 : 1	53.4(1.0) /	40.8(3.0) /	23.8(2.1)
8 : 3 : 1	54.0(0.8) /	41.0(1.1) /	23.7(0.9)
5 : 2 : 1	54.0(1.0) /	41.0(2.2) /	24.0(1.4)

T_H ↑

DSL : DPL : DML	DSL	DPL	DML
2 : 3 : 1	53.6(0.5) /	41.0(1.3) /	23.3(1.9)
4 : 3 : 1	54.2(1.3) /	41.2(3.2) /	24.1(0.8)
8 : 3 : 1	54.2(0.7) /	41.0(1.3) /	23.6(1.2)
5 : 2 : 1	53.4(1.3) /	40.8(0.8) /	23.2(1.1)

2. Diskussion der Ergebnisse

Die thermotropen Phasenumwandlungen wässriger Phospholipid-dispersionen waren der Gegenstand zahlreicher Arbeiten in der Literatur der letzten Jahre. Die Motivation für diese Studien stammt daher, daß viele biologische Phänomene, die an einer Biomembran stattfinden, auch vom Lipidteil der Membran und seinem physikalischen Zustand abhängen könnten. Lipidfremde Störmoleküle in einer reinen Lipidmembran verschieben die Temperatur des Phasenüberganges und verbreitern ihn. Aus dieser Tatsache sollten sich sowohl über die Natur des Phasenumwandlungsprozesses selber wie auch über die Art seiner Beteiligung bei der Wirkung am Beispiel von Drogen oder Anästhetika ⁽⁶³⁾ Erkenntnisse gewinnen lassen. Jain und Wu ⁽¹⁴⁸⁾ sowie Lee ⁽³⁰⁾ führten deshalb umfangreiche Experimente aus, die sich mit dem Einfluß zahlreicher organischer und anorganischer Verbindungen auf das Phasenverhalten von Dipalmitoyllecithin (DPL) beschäftigen. Von besonderem Interesse sind in diesem Zusammenhang die Effekte, welche sich beim Einbau aliphatischer Alkohole in Lipiddispersionen ergeben. Solche alkanoldotierten Phospholipidmembranen werden mit verschiedenen biophysikalischen Techniken untersucht, wie Fluoreszenz ^(149,150), Differentialkalorimetrie ^(148,151-153), Elektronenspinresonanz ^(150,154,155), Dilatometrie ⁽¹⁰⁴⁾ und Lichtstreuung ⁽¹⁵⁶⁾.

Als gemeinsames Resultat zeigen die erwähnten Arbeiten, daß kurzkettige Alkohole die Temperatur T_H der Hauptphasenumwand-

lung der Phospholipide, in die sie inkorporiert sind, herabsetzen, während langkettige Alkanole T_H erhöhen, relativ zur reinen Lipidmembran. Außerdem ist die Kettenlänge der Alkohole, bei denen die T_H -Erniedrigung umschlägt in eine T_H -Erhöhung, abhängig vom verwendeten Lipid (149). Ferner weist das unterschiedliche thermotrope Phasenumwandlungsverhalten von DPL-Dispersionen, die strukturisomere Octanole enthalten, auf einen Zusammenhang zwischen Lipidphasenübergang und molekularer Geometrie der Störmoleküle hin (153). Unter diesem Aspekt stellen ungesättigte langkettige Alkohole und Pheromone eine interessante Verbindungsgruppe dar.

Eine grundsätzliche Frage der Molekularbiologie stellt die Art der Wechselwirkung der Lipide untereinander und mit den Proteinen in einer Membran dar.

Die heute akzeptierte Vorstellung vom Aufbau einer Membran, daß Proteine an bimolekularen Lipidschichten adsorbiert und in sie integriert sind, ist durch viele experimentelle Fakten und Hinweise belegt. Dabei spielt der Phasenzustand der Lipiddoppelschicht eine wichtige Rolle, denn er determiniert die konformative Beweglichkeit der Proteine und kann daher Membranfunktionen beeinflussen.

Der Phasenzustand der Lipidmatrix hängt ab von der Natur der die Membran konstituierenden Komponenten. Schon frühzeitig wurde erkannt (157), daß in Membranen lokal oder temporär fluide Domänen in soliden Lipidbezirken (und umgekehrt) koexistieren können. Neben anorganischen Kationen vermögen auch lipidfremde, organische Moleküle wie langkettige Alka-

nole und Pheromone, die in die Lipiddoppelschicht inkorporiert werden, die Phasenumwandlung zu triggern. Von besonderem Interesse dabei ist das Verhalten der Vorumwandlung von mit solchen Fremdmolekülen dotierten Modellmembranen, denn aus dem durch die Vorumwandlung charakterisierten intermediären Zwischenzustand ist sowohl die feste Gel- wie die fluide Phase erreichbar.

Als künstliche Membran dient dabei die wässrige Dispersion eines gesättigten Lecithins (DML oder DPL). Das Lecithin-Wasser-System ist experimentell gut charakterisiert: es liegt als Lipiddoppelschicht vor und zeigt außer der Hauptumwandlung noch die, auch fluoreszenzspektroskopisch nachweisbare, Vorumwandlung; dadurch ergeben sich im undotierten System drei unterscheidbare Phasenzustände (vgl. Abb. 14, S. 83 und Abb. 20, Typ HV, S. 125). Die Grenzen dieser Phasen werden durch die zur wässrigen Lipiddispersion hinzugefügten langkettigen Alkohole und Pheromone unterschiedlich verschoben. Insbesondere führen bestimmte, für die jeweilige Fremdschubstanz charakteristische Konzentrationen zum totalen Verschwinden der Vorumwandlung. Die Störung der polymeren Lecithinmembran durch die zusätzlich eingebauten Alkohol- und Pheromonmoleküle äußert sich also darin, daß die gewellte Zwischenphase (oder Gelphase?) nicht mehr existent ist.

Außerdem zeigt sich eine für jede untersuchte Substanz typische Abhängigkeit der Temperatur der Vor- und Hauptumwandlung von der Konzentration und Struktur des lipidfremden Mole-

küls. Diese beiden Aussagen sollen im folgenden quantitativ mit Zahlen belegt werden. Die Zahlen ergeben sich aus den entsprechenden Tabellen des voranstehenden Kapitels IV.1. (S. 130 f).

2.1. Vorumwandlung und Alkanolstruktur

Bei den untersuchten langkettigen Alkanolen ist die einzige Strukturvariable die Länge der Kohlenwasserstoffkette. Tritt bei einer Konzentrationsreihe eines bestimmten Alkohols ein Übergang von der Kurvenform des Typs HV (Vorumwandlung vorhanden) zum Typ H (Vorumwandlung nicht mehr vorhanden, vgl. Abb. 20, S. 125 und Abb. 21, S. 129) auf, so kennzeichnet das Umschlagsintervall die hier sogenannte "kritische" Konzentration. Mit der niedrigeren Alkoholkonzentration dieses "kritischen" Konzentrationsbereichs (und allen kleineren) ergibt sich eine Fluoreszenzkurve mit Vorumwandlung, während mit der höheren Konzentration (und allen größeren) die Vorumwandlung nicht mehr auftritt.

Mit Konzentrationen innerhalb dieses Umschlagsbereiches zeigt sich der Vorumwandlungspunkt beim Abkühlen der Dispersion noch, während er beim Aufheizen derselben Probe fehlt (oder umgekehrt). Dies gilt für gesättigte n-Alkohole der Kettenlänge C_8 mit C_{14} , und zwar sowohl in DML- wie in DPL-Dispersion.

Für die längeren Alkohole Pentadecanol bis Eicosanol (C_{15} , C_{16} , C_{18} und C_{20}) trifft dies nicht mehr zu: hier ist

die Vorumwandlung sichtbar bis über den in der Tabelle 11 (s. unten) angegebenen Prozentwert hinaus, wobei aber die Fluoreszenzkurve instabil wird, d. h., die Fluoreszenzintensität ändert sich bei größeren Konzentrationen dauernd sprunghaft, das Rauschen der Kurve wird also so groß, daß eine eindeutige Auswertung unmöglich ist. Auch das gilt für beide Lecithine. Die oben erwähnten, "kritischen" Alkoholkonzentrationen für den Fortfall der Vorumwandlung ergeben sich aus den Tabellen IV.1.1.1. (S. 132f) für DML bzw. IV.1.2.1. (S. 150f) für DPL; sie sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt.

	DML	DPL
Octanol	125 - 150	400 - 450
Nonanol	43 - 53	85 - 105
Decanol	41 - 46	21 - 29
Undecanol	31 - 36	35 - 39
Dodecanol	23 - 29	12 - 27
Tridecanol	15 - 19	10 - 14
Tetradecanol	6 - 10	7 - 10
Pentadecanol	>50, inst.	>30, inst./7-10 (1% NPN)
Hexadecanol	>60, inst.	>50, inst./>25, inst. (1% NPN) 20 - 22 (5% NPN)/9-10 (1% ANS)
Octadecanol	>60, inst.	>60, inst./4-7 (0.5% ANS)
Eicosanol	>60, inst.	>60, inst./>30 (0.5% ANS)

Tab. 11: Kritische Alkoholkonzentrationen (in Prozent der Lecithine DML bzw. DPL; Mol : Mol).

Laut Tabelle zeigt also eine $1,25 \cdot 10^{-4}$ -molare DML-Dispersion mit 1% NPN als Fluoreszenzindikator z. B. für Tridecanol bis 15 Molprozent die Vorumwandlung, und zwar sowohl beim Abkühlen wie beim Aufheizen der Dispersion, während ab 19 Molprozent die Vorumwandlung jeweils fehlt. Bei Tridecanolkonzentrationen zwischen 15 und 19 Prozent ist sie entweder beim Abkühlen oder beim Aufheizen noch vorhanden. Daß auch Art und Konzentration des Fluoreszenzindikators sich auf die kritischen Alkoholkonzentrationen auswirken, ist z. B. für die Werte von Hexadecanol ersichtlich: Mit 1% NPN gibt die DPL-Dispersion die Vorumwandlung bis zu einem Hexadecanol-Gehalt von 50%, ehe sie instabil wird, wohingegen die Dispersion mit 1% NPN nur 25% Hexadecanol verträgt, ehe sie ausflockt und einen Niederschlag bildet. Im Gegensatz dazu kann die Vorumwandlung mit 5% NPN bei 20 - 22% bzw. mit 1% ANS bei 9 - 10% Hexadecanol zum Verschwinden gebracht werden.

Zum Vergleich der kritischen Konzentrationen der einzelnen Alkohole miteinander wurde deshalb immer eine minimale und konstante Menge desselben Fluoreszenzindikators verwendet, nämlich ein Promill NPN. Damit sind die Unterschiede zwischen den kritischen Konzentrationen der untersuchten Alkohole nur noch eine Folge der unterschiedlichen Kettenlängen, vorausgesetzt, daß der Einbau der Alkanole in die Lipidmatrix auf die gleiche Weise erfolgt. Das wichtigste Ergebnis aus der Tabelle 11 ist die Tatsache, daß die kritischen Alkoholkonzentrationen für den Wegfall der Vorumwandlung mit zu-

nehmender Kettenlänge kontinuierlich kleiner werden. Einzig Undecanol in DPL-Matrix fällt aus diesem Schema heraus.

Die graphischen Darstellungen der Abbildungen 23 und 24 (S. 187 und 188), in denen die kritischen Konzentrationen in Prozent auf der Ordinate gegen die Kettenlänge n der Alkohole auf der Abszisse aufgetragen sind, zeigen die Art des funktionellen Zusammenhanges dieser beiden Variablen.

Abb. 23: Kritische Alkoholkonzentrationen in O/L.
(x, ●: untere, obere Grenze der kritischen Konzentration)

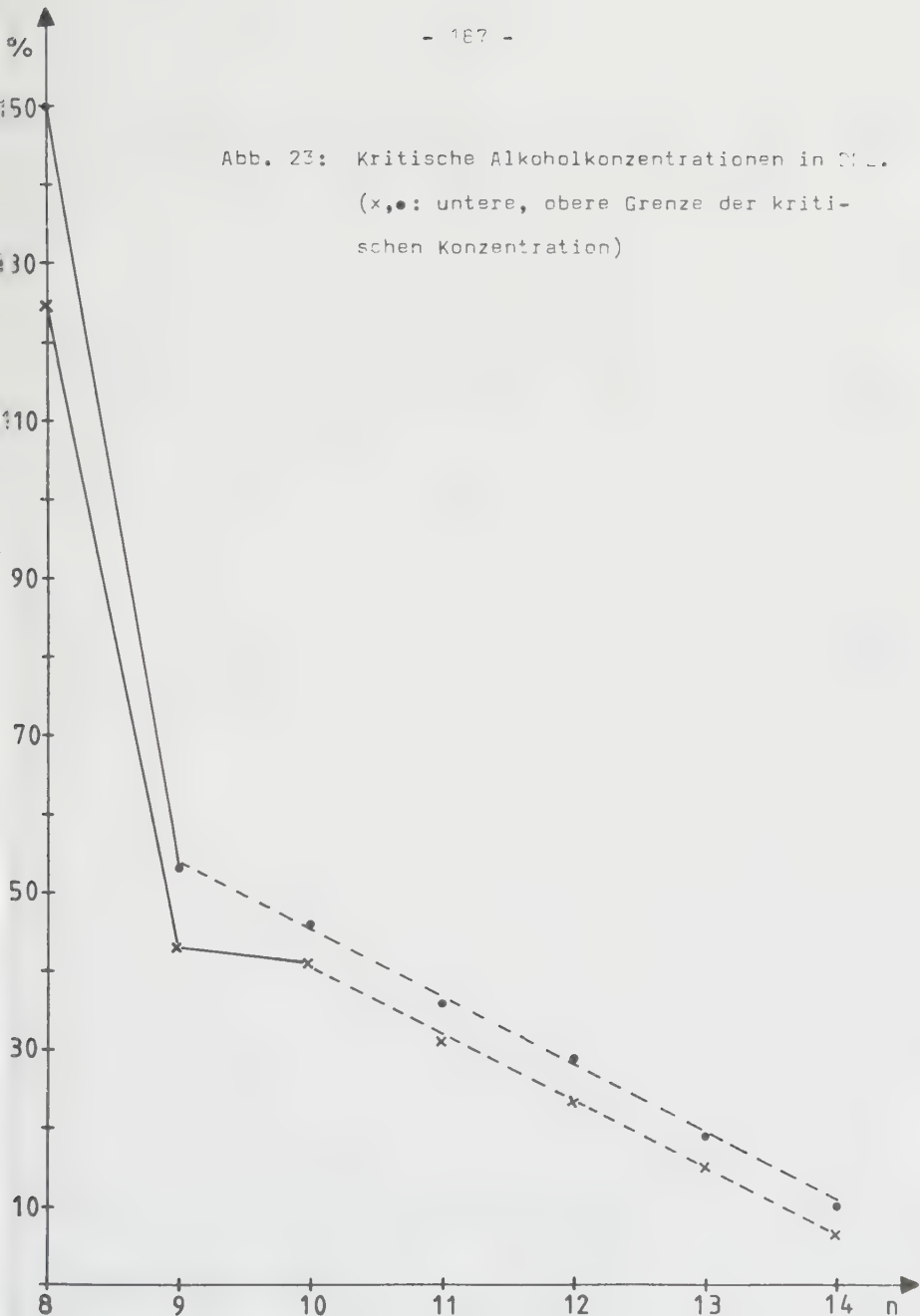
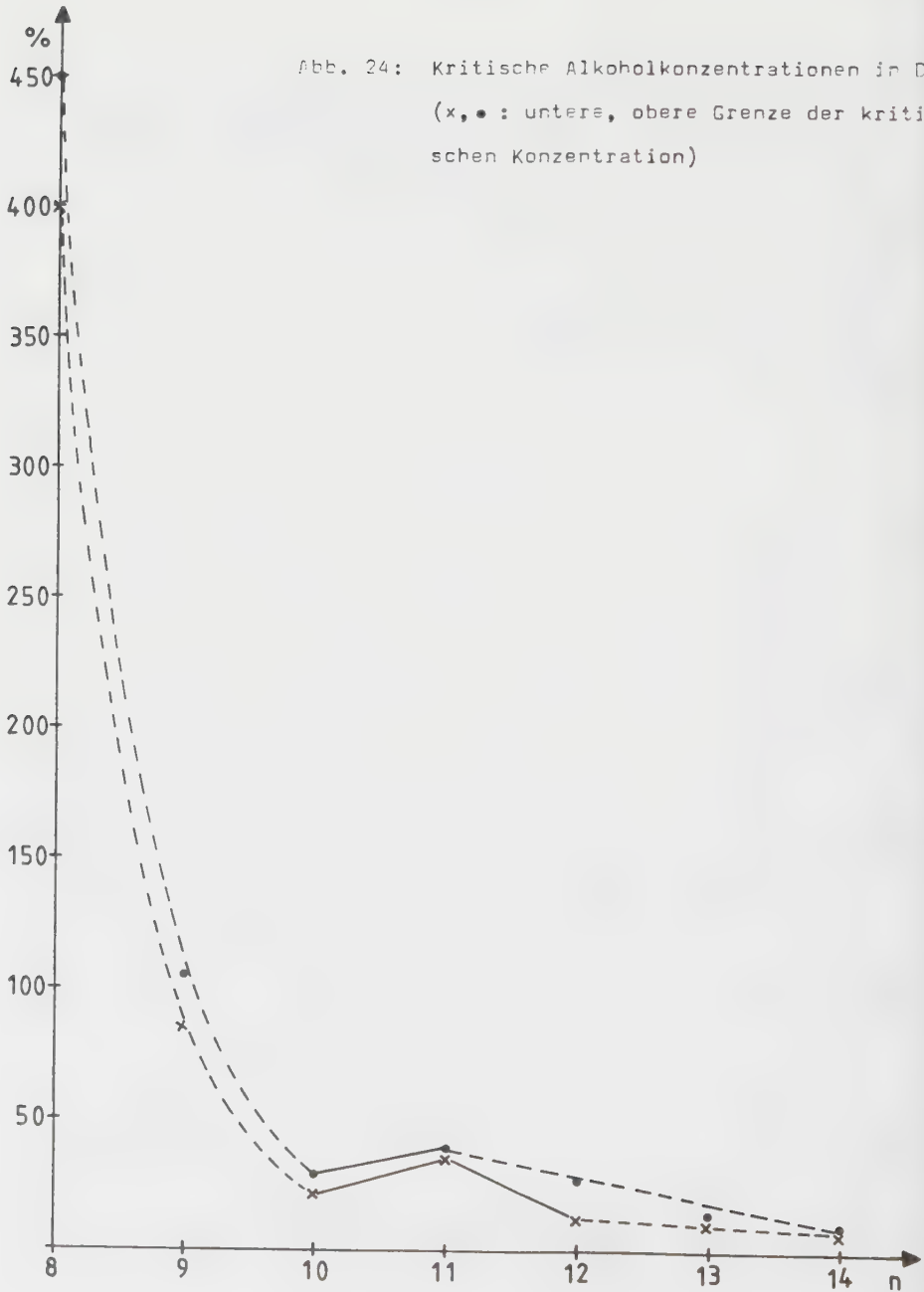


Abb. 24: Kritische Alkoholkonzentrationen in DF
(x, • : untere, obere Grenze der kritischen Konzentration)



Wie aus Abbildung 23 (S. 187) zu ersehen ist, liegen in DML-Matrix die kritischen Konzentrationen der Alkohole Decanol bis einschließlich Tetradecanol auf zwei parallelen Geraden mit negativer Steigung. Die benötigten kritischen Alkanolmengen, die in der Fluoreszenzkurve die Vorumwandlung verschwinden lassen, sind also umgekehrt proportional zur Länge der Alkohole. Die experimentellen Meßpunkte für die untere (x) und die obere (•) Grenze der kritischen Alkoholkonzentrationen liegen recht gut auf beiden, in Abb. 23 gestrichelten, Regressionsgeraden: die maximale Abweichung beträgt 1.2% (beim Dodecanol). Für die untere und die obere Grenze der kritischen Konzentrationen gelten die beiden Geradengleichungen (bestimmt nach der Methode der kleinsten Quadrate)

$$\% = - 8.6 n + 126.4 \quad (\text{untere Grenze: } x) \text{ und}$$

$$\% = - 8.66 n + 131.7 \quad (\text{obere Grenze: } \bullet).$$

Somit fassen diese beiden Gleichungen die lineare Abhängigkeit der kritischen Konzentrationen der fünf Alkohole Decanol mit Tetradecanol als Funktion der Kettenlänge zusammen. Wie früher schon erwähnt, zeigt sich die Vorumwandlung bis zur unteren Grenze der kritischen Alkoholkonzentration sowohl beim Abkühlen wie auch beim Aufheizen der Lipiddispersion, während sie mit Konzentrationen, die größer sind als die obere Grenze, weder beim Abkühlen noch beim Aufheizen vorhanden ist.

Die beiden kürzerkettigen Alkohole Nonanol und Octanol sind nicht mehr in dieses lineare Schema integrierbar. Zwar paßt der obere kritische Grenzwert des Nonanols noch gut auf die Regressionsgerade für den Bereich der Kettenlänge $n = 10 - 14$; der untere Wert liegt hingegen deutlich zu niedrig (ca. 6%), sodaß die Differenz zwischen oberem und unterem kritischen Konzentrationsgrenzwert beim Nonanol 10% beträgt und somit größer ist als die 4 bis 6% Differenz bei den längerkettigen Alkoholen. Eine weitere Vergrößerung dieser Differenz (siehe Tab. 11, S. 184) auf 25% ergibt sich für Octanol, außerdem liegt der kritische Konzentrationsbereich des Octanols sehr viel höher, nämlich beim ungefähr dreifachen Wert des Nonanols, während sich im Bereich $n = 10 - 14$ beim Vergleich zweier Alkohole, die sich in ihrer Länge um eine CH_2 -Einheit unterscheiden, lediglich ein Unterschied der kritischen Konzentrationen von 7 - 10% ergibt. Man kann also die Struktur-Wirkungsbeziehung der Abb. 23 (S. 187), welche die Vorumwandlung des Lecithins über die kritische Konzentration mit der Kettenlänge des membrangebundenen Alkohols verknüpft, grob in drei Abschnitte einteilen: Für Tetradecanol bis inklusive Decanol gilt eine klare lineare Abhängigkeit, Nonanol markiert einen Übergangspunkt, und Octanol fällt ganz eindeutig aus diesem Schema heraus. Das bisher Gesagte gilt für die DML-Matrix.

Geht man zur DPL-Dispersion über (vgl. Abb. 24, S. 188), so tritt die erwähnte Dreiteilung der Kurve augenfälliger in Erscheinung, dafür werden die mathematischen Abhängigkeiten

komplexer. Hier bilden Octanol, Nonanol und Decanol die erste Gruppe, deren experimentelle Meßwerte durch Exponentialfunktionen approximierbar sind; für die untere kritische Grenze (x) gilt

$$\% = 5.13 \cdot 10^7 e^{-1.47 n}$$

und für die obere (•)

$$\% = 2.54 \cdot 10^7 e^{-1.37 n} \quad (n = 8 - 10).$$

Der obere Grenzwert von Undecanol paßt zwar in die beste Regressionskurve für den Bereich $n = 12 - 14$, der untere Wert aber weder zum ersten noch zum dritten Teil der Funktion. Undecanol in DPL nimmt also etwa die gleiche Zwitterstellung ein wie Nonanol in DML.

Die dritte Gruppe hier repräsentieren Do-, Tri- und Tetradecanol. Sie ist zur Verdeutlichung in Abb. 25 (S. 193) als vergrößerter Teil der Abb. 24 (S. 188) dargestellt.

Die untere kritische Grenzkonzentration (x) für $n = 12 - 14$ kann etwa gleich gut linear durch die Geradengleichung

$$\% = - 2.5 n + 42.2$$

wie durch die Exponentialfunktion

$$\% = 3.14 \cdot 10^2 e^{-0.27 n}$$

angenähert werden. Für die obere Grenze (•) der kritischen Alkoholkonzentration gibt für $n = 11 - 14$ die exponentielle Lösung

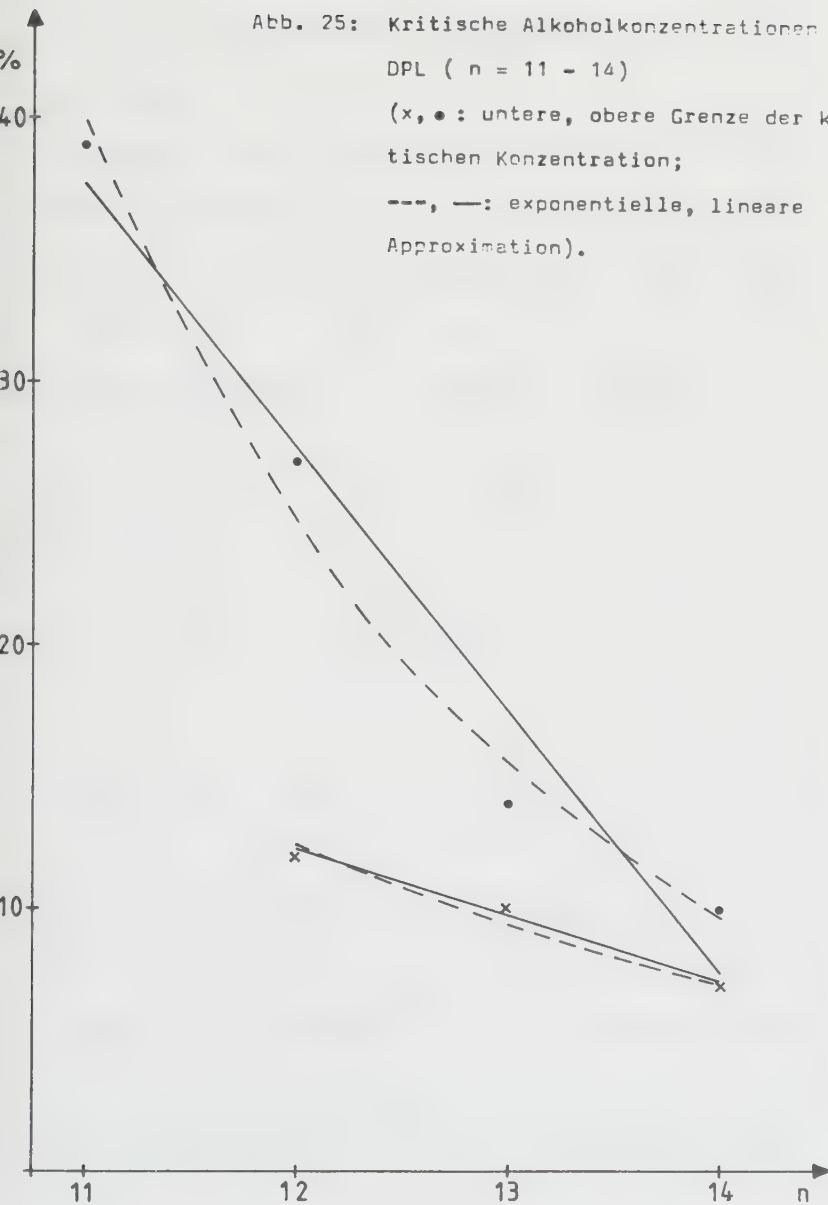
$$\% = 7.3 \cdot 10^3 e^{-0.47 n}$$

die bessere Approximation der experimentellen Meßwerte, insbesondere für Tri- und Tetradecanol, als die lineare

$$\% = - 10.0 n + 147.5 \quad .$$

In Abbildung 25 (S. 193) sind die exponentiellen Abhängigkeiten gestrichelt und die Näherungsgeraden ausgezogen gezeichnet.

Abb. 25: Kritische Alkoholkonzentrationen in
DPL ($n = 11 - 14$)
($x, \bullet$: untere, obere Grenze der kri-
tischen Konzentration;
---, —: exponentielle, lineare
Approximation).



2.2. Vorumwandlung und Pheromonstruktur

Auch wenn Pheromone als Fremdkomponente in die Lecithin-dispersion eingebracht werden, ergeben sich kritische Konzentrationen, welche die Vorumwandlung verschwinden lassen. Diese kritischen Pheromonkonzentrationen können aus den Meßwerten der Tabellen IV.1.1.2. bis IV.1.1.12. für DML (S. 141f) bzw. aus den entsprechenden Tabellen für DPL (S. 166f) abgelesen werden. Sie sind in der Tabelle 12 aufgeführt, zusammen mit den in den nachfolgenden Abbildungen verwendeten Abkürzungen für die Pheromone.

	DML	DPL
Z-9-Tetradecenol (Z-9:14-OH)	16 - 23	17 - 24
E-9-Tetradecenol (E-9:14-OH)	13 - 20	9 - 12
Z-9,Z-11-Tetradecadienol (Z-9,Z-11:14-OH)	25 - 30	8 - 15
Z-9-Tetradecenylacetat (Z-9:14-OAc)	30 - 40, invers	22 - 25, invers
E-9-Tetradecenal (E-9:14-Al)	16 - 25	13 - 15
Z-11-Hexadecenol (Z-11:16-OH)	9 - 15	5 - 10

	DML	DPL
E-11-Hexadecenol (E-11:16-OH)	> 90	50 - 100
Z-11,Z-13-Hexadecadienol (Z-11,Z-13:16-OH)	20 - 27	8 - 10
Z-13-Octadecenol (Z-13:18-OH)	95 - 140	100 - 115
Z-13-Octadecenylacetat (Z-13:18-OAc)	20 - 50, invers	20 - 60, invers
Z-13-Octadecenal (Z-13:18-Al)	> 60	50 - 70 (?)

Tab. 12: Kritische Pheromonkonzentrationen (in Prozent der Lecithine DML bzw. DPL, Mol : Mol).

Alle Werte gelten wieder für $1,25 \cdot 10^{-4}$ -molare Lecithin-dispersionen mit einem Promill NPN als Fluoreszenzindikator. Im Gegensatz zu den gesättigten, pheromonanalogen n-Alkanolen sind aber nun nicht mehr alle untersuchten Pheromone direkt miteinander vergleichbar in Bezug auf ihren Einfluß auf die Lecithinphasenumwandlung, denn ihre Struktur weist, anders als die langkettigen Alkohole, mehrere Variable auf, nämlich die Länge der Alkenylkette (14, 16 oder 18 C), die Zahl (eine oder zwei) und Konfiguration (Z oder E) der Doppelbindung sowie die Art der funktionellen Gruppe (Alkohol,

Aldehyd, Acetat). Alle untersuchten Pheromone haben denselben Endalkylteil, die Butylgruppe, mit Ausnahme der beiden konjugierten Dienole, welche als Methylenide den Butenylrest tragen. Dadurch ist die Lage der Doppelbindung fixiert und Kettenlängenunterschiede wirken sich auf den Alkylteil zwischen Doppelbindung und funktioneller Gruppe aus. Somit ergibt sich für die getesteten Pheromone die allgemeine Struktur



mit den Variablen Konfiguration an der Doppelbindung, Kettenlänge $n = 7, 9, 11$ und funktioneller Gruppe $\text{X} = \text{CH}_2\text{OH}$, CHO , $\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$. Die Einführung einer Doppelbindung in einen Alkylrest bringt, je nach Art der Doppelbindung, unterschiedliche Effekte mit sich: eine E-Doppelbindung zeigt praktisch keine Änderung von Länge und Konformation der Alkenylkette im Vergleich zum gesättigten Analogon, während die Z-Konfiguration die Kettenlänge effektiv um ca. 1.5 CH_2 -Einheiten verkürzt und die effektive Breite der Kette (z. B. bei Rotation) vergrößert. Zwei konjugierte Z-Doppelbindungen ergeben eine Verkürzung der effektiven Kettenlänge um eine CH_2 -Einheit.

Beim Vergleich der Tabelle 12 (S. 194/5) mit den kritischen Konzentrationen der pheromonähnlichen Alkohole der Tabelle 11 (S. 184) fällt zuerst auf, daß bei den Pheromonen kein Fall existiert, wie er bei den Alkanolen für Pentadecanol und seine höheren Homologen auftritt, d. h. daß die Fluoreszenzkurve bei keiner vermessenen Pheromon-

konzentration instabil wird. Vielmehr kann mit allen Pheromonen die Vorumwandlung beseitigt werden, auch wenn ihre effektive Länge größer ist als die der Fettsäureketten der beiden Lecithine. Dieses Argument, daß die Instabilitätsgrenze sowohl bei DML wie bei DPL mit Pentadecanol erreicht ist, könnte man aus dem Verhalten der Alkohole (Tabelle 11) herauslesen.

Es gilt aber nicht mehr für die Pheromone, denn die Beispiele Z-11-Hexadecenol (effektive Länge 14.5 C), Z-11,Z-13-Hexadecadienol ($15 C_{\text{eff}}$) und Z-13-Octadecenol ($16.5 C_{\text{eff}}$) zeigen, daß hier sehr wohl kritische Konzentrationen vorhanden sind, wenn sie auch beim Octadecenol stark ansteigen. Der Grund hierfür muß die Anwesenheit der Doppelbindung sein. Die beiden Acetate der Tabelle 12 nehmen eine Sonderstellung ein: Sie ergeben eine andere, die inverse, Form der Fluoreszenzkurve als alle übrigen Fremdmoleküle (vgl. Abb. 20, S. 125 Typ I). Ebenso liegt bei ihnen das Maximum des Fluoreszenzemissionsspektrums bei ca. 405 nm und damit um 10 nm tiefer als mit den anderen Dispersionen.

Dieses außergewöhnliche Verhalten dürfte auf einen veränderten Adsorptionsort der funktionellen Acetatgruppierung (vgl. Abb. 19c, S. 119) im polaren Lecithinbereich im Vergleich zur Adsorption der alkoholischen Hydroxylgruppe zurückzuführen sein.

Um die beobachteten Unterschiede der kritischen Pheromonzentralisationen in ihrer Wirkung auf die Vorumwandlung ver-

nünftig erklären und zuordnen zu können, dürfen immer nur Pheromonpaare miteinander verglichen werden, die nur in einem einzigen variablen Strukturmerkmal differieren.

Das ist in Abbildung 26 (S. 199) mit Z-9-Tetra-, Z-11-Hexa- und Z-13-Octadecenol gezeigt. Die Strukturvariable Kettenlänge ($n = 14, 16, 18$) der drei Homologen ergibt ähnliches Verhalten für DML (gestrichelt) und DPL (ausgezogen), nämlich ein Minimum bei der mittleren effektiven Kettenlänge $n_{\text{eff}} = 14.5$ für Hexadecenol und einen starken Anstieg beim Übergang zum Octadecenol. Die Abnahme der kritischen Konzentration mit wachsender Kettenlänge (von $n = 14$ zu $n = 16$) erinnert an die analoge Situation bei den vergleichbaren gesättigten Alkoholen Dodecanol bis Tetradecanol (vgl. Abb. 23 und 24, S. 187/8).

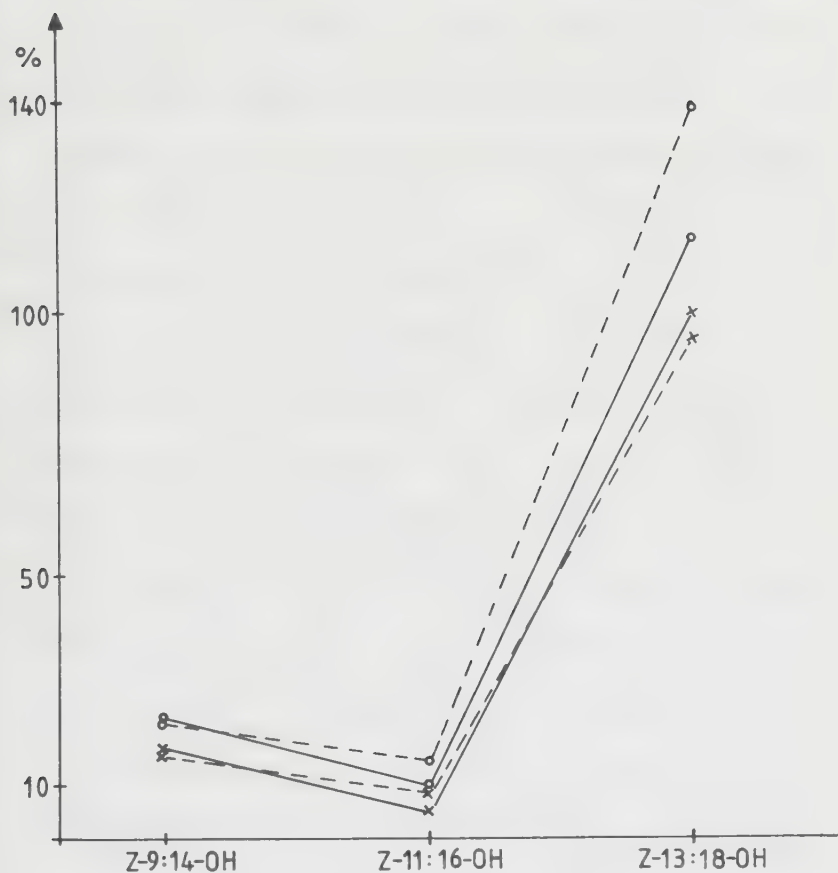


Abb. 26: Kritische Pheromonkonzentrationen Z-ungesättigter Alkenole (in DML: ----; in DPL: —; x, o: untere, obere Grenze der kritischen Konzentration).

In Abbildung 26 und den folgenden sind untere beziehungsweise obere kritische Pheromongrenzkonzentration wieder durch x beziehungsweise o markiert. Wie sich die Einführung einer E- oder Z-Doppelbindung beziehungsweise zweier konjugierter Z-Doppelbindungen auf die kritische Pheromongrenzkonzentration auswirkt, ist in Abbildung 27 (S. 201) in Relation zur gesättigten Stammverbindung Tetradecanol dargestellt. In der Reihe Z-9,Z-11-Tetradecadienol, Z-9-Tetradecenol, E-9-Tetradecenol und Tetradecanol ergibt sich eine kontinuierliche Abnahme der kritischen Konzentrationen für die DML-Dispersion, wohingegen in DPL-Matrix die kritische Konzentration von Z-9,Z-11-Tetradecadienol aus dieser Tendenz herausfällt. Ein Quervergleich der Abbildung 27 mit den entsprechenden Pheromonen der C₁₆-Reihe (Abb. 28, S. 202) offenbart eine ganz andere Situation: Hier ist, konsistent bei beiden Lecithinen, zwar die Wirkung der zwei Z-substituierten Pheromone in etwa jeweils ähnlich, aber für E-11-Hexadecenol findet sich ein erheblicher Anstieg der kritischen Konzentration, anders als für E-9-Tetradecenol (Abb. 27), das in seiner Wirksamkeit dem Tetradecanol am nächsten kommt.

Schließlich zeigt die graphische Darstellung der Abbildung 29 (S. 203), wie sich die den Vorumwandlungspunkt bestimmende Pheromongrenzkonzentration % (krit.) ändert, wenn die Alkoholfunktion gegen die Aldehydgruppe (a) beziehungsweise gegen die Acetatgruppe (b) ausgetauscht wird. In beiden Fällen kann man sagen, daß in grober Näherung die Maßpunkte

für Aldehyd beziehungsweise Acetat, ungesättigten Alkohol und Tetradecanol ungefähr auf einer zum Tetradecanol hin abfallenden Geraden liegen; Z-9-Tetradecenylacetat in DPL bildet die Ausnahme von dieser Regel (Abb. 29b).

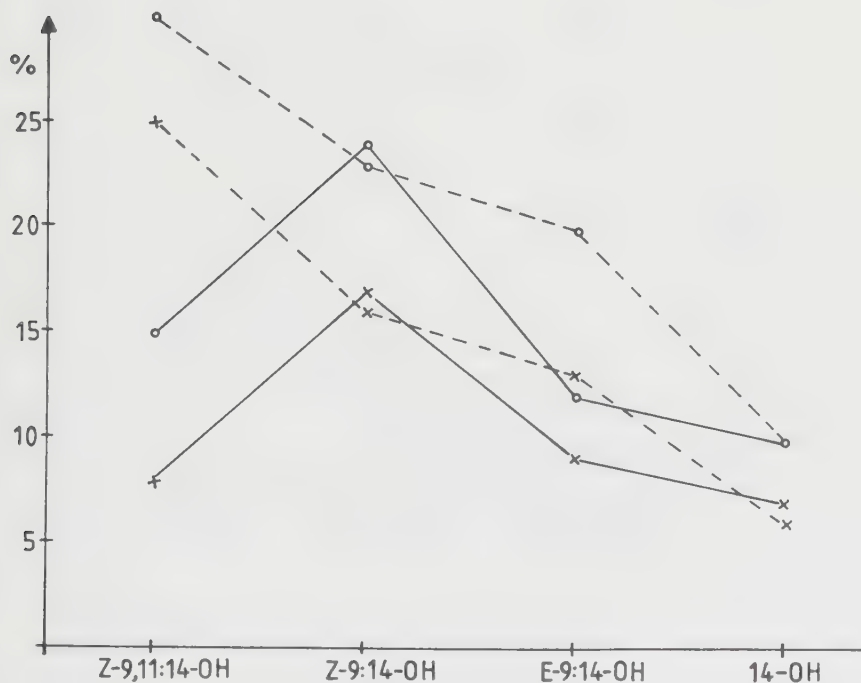


Abb. 27: Kritische Konzentrationen von C_{14} -Pheromonen (Legende wie Abb. 26).

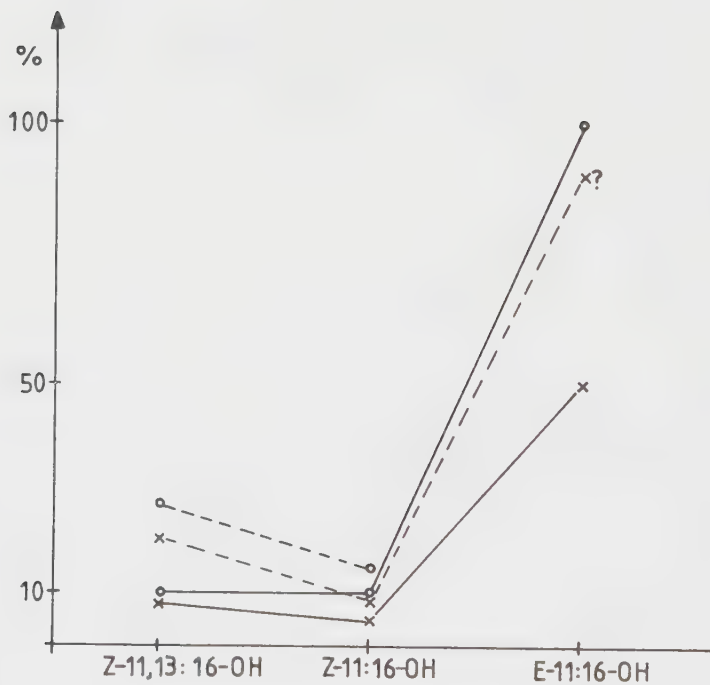
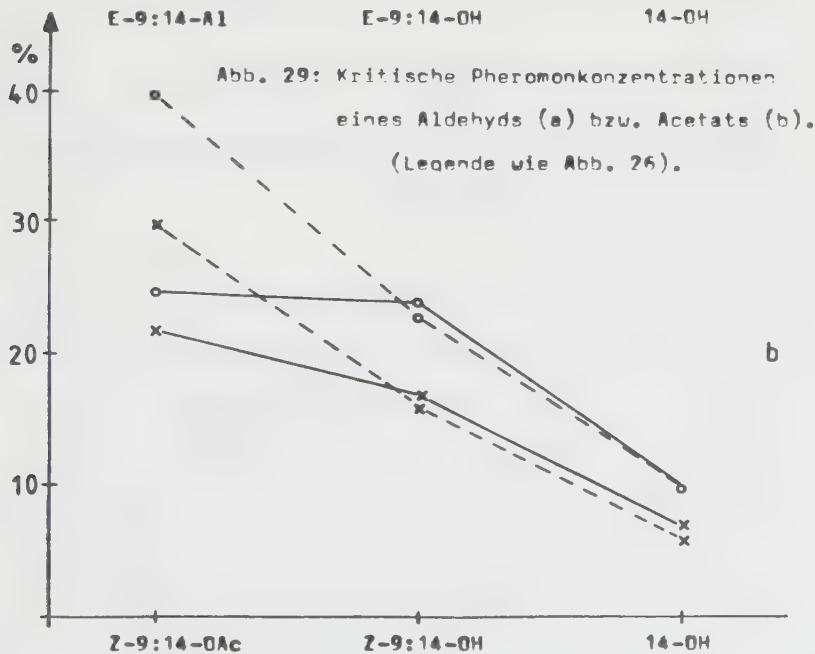
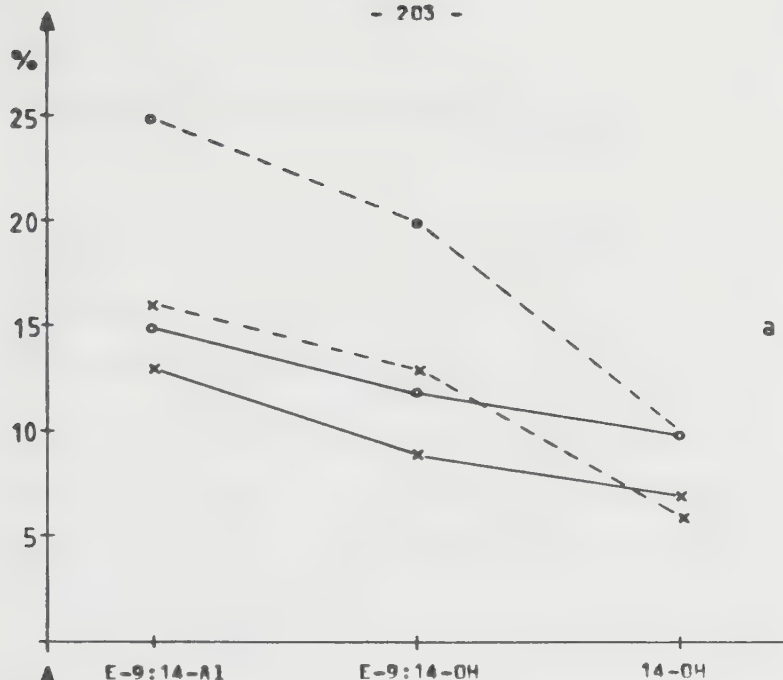


Abb. 28: Kritische Konzentrationen von C_{16} -Pheromonen (Legende wie Abb. 26).



2.3. Die Umwandlungstemperaturen als Funktion der
Konzentration

Die Phasenübergangsparameter Umwandlungstemperatur und -breite sind abhängig von der Struktur und der Konzentration des im Lecithin dispergierten gesättigten Alkohols oder Pheromons (139). Trägt man die experimentell ermittelten Temperaturen der Haupt- und Vorumwandlung T_H und T_V auf der Ordinate gegen die zugehörige Konzentration auf der Abszisse auf, so lassen sich die Meßwerte des untersuchten Konzentrationsbereiches durch je eine Gerade für Haupt- und Vorumwandlungstemperatur beim Abkühlen und Aufheizen der Dispersion annähern. In manchen Fällen bringt eine Approximation durch zwei lineare Teilstücke eine bessere Anpassung, wie in der unteren Hälfte von Abbildung 30 (S.205) für die Vorumwandlungstemperatur beim Aufheizen von [-9-Tetradecenol in DML gezeigt ist: Der Konzentrationsbereich 10 bis 18 % wird durch die Gerade

$$^{\circ}\text{C} = 0.43 \% + 12.4$$

beschrieben, während sich für 18 mit 24 %

$$^{\circ}\text{C} = - 0.09 \% + 21.9$$

ergibt.

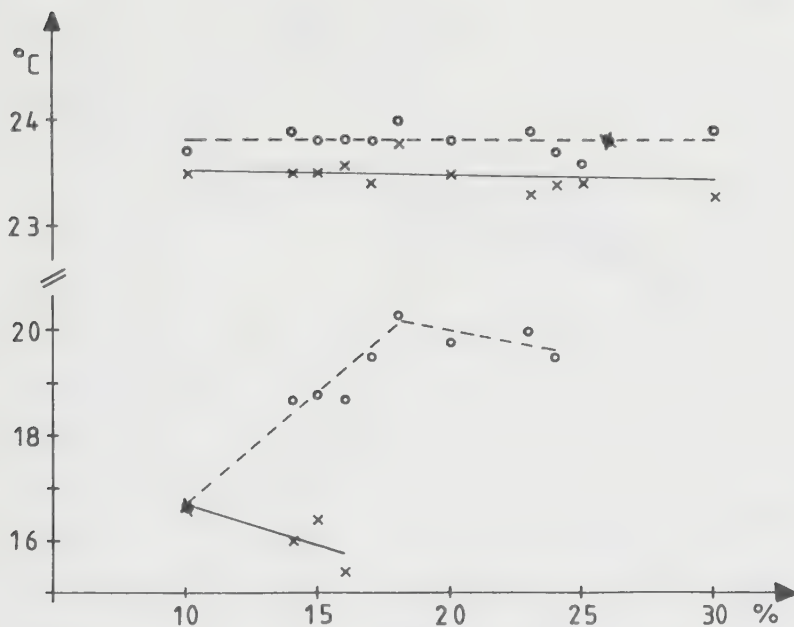


Abb. 30: Temperaturen der Haupt- (oben) und Vorumwandlung (unten) von E-9:14-A1 in DML in Abhängigkeit von der Aldehydkonzentration (Abkühlen: x; Aufheizen: o).

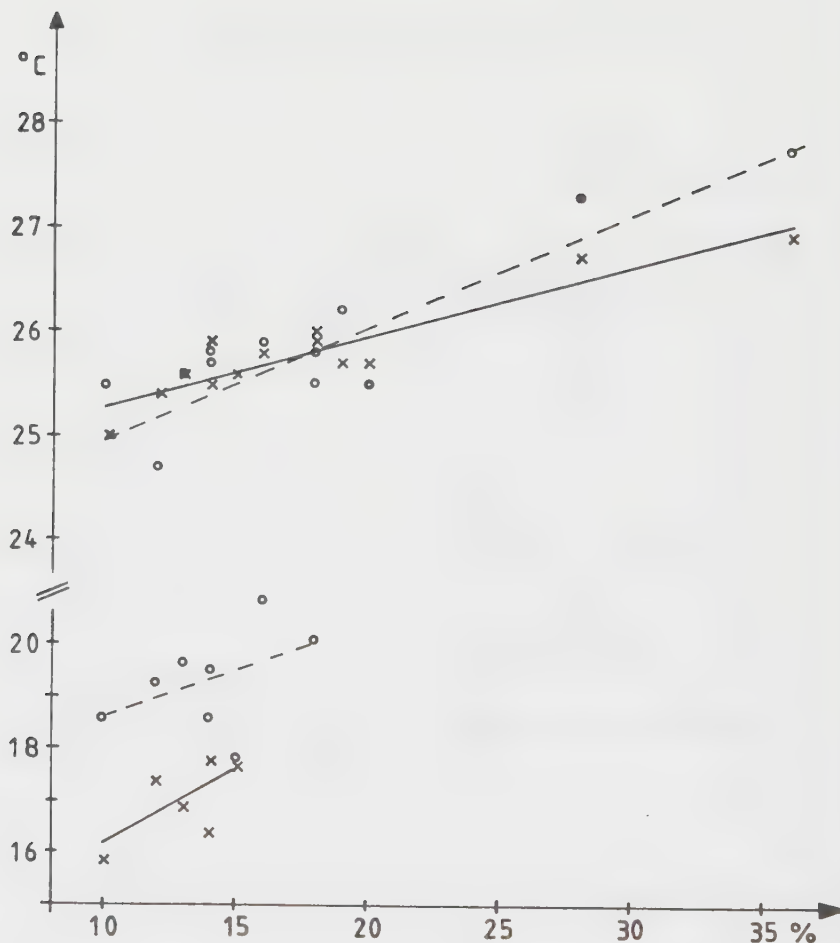


Abb. 31: Phasenumwandlungstemperaturen von 13-OH in DML
als Funktion der Konzentration
(Legende wie Abb. 30).

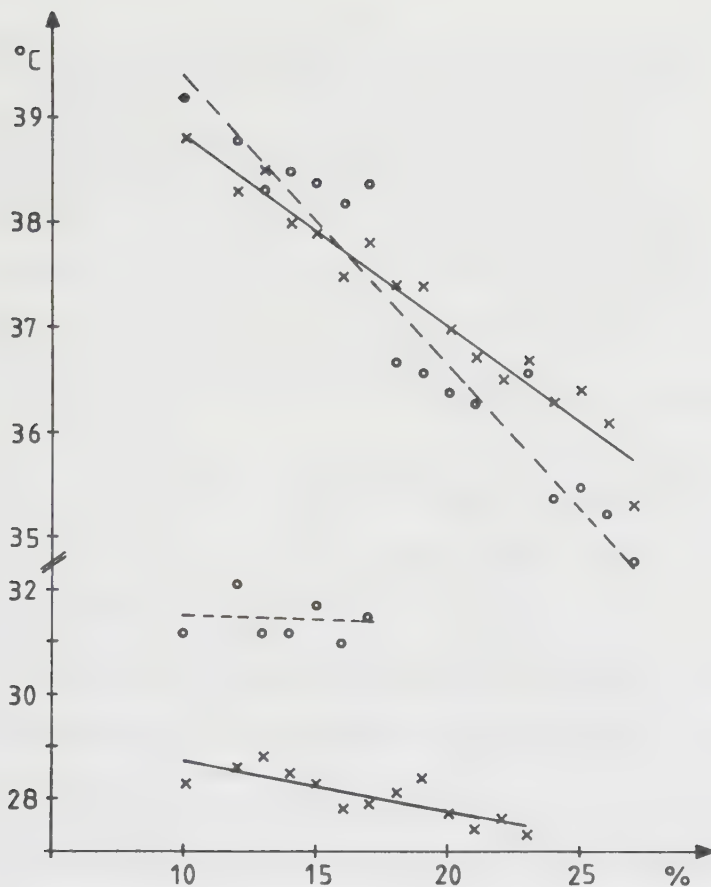


Abb. 32: Phasenumwandlungstemperaturen von Z-9:14-OH in DPL als Funktion der Konzentration (Legende wie Abb. 30).

Die sogenannte kritische Konzentration von E-9-Tetradecenal in DML von 16 bis 25 % kann direkt aus der Abbildung 30 (S. 205) abgelesen werden: Konzentrationen bis 16 % zeigen die Vorumwandlung sowohl beim Abkühlen wie beim Aufheizen, zwischen 17 und 24 % nur mehr beim Aufheizen, und ab 25 % tritt sie überhaupt nicht mehr auf. Wie sich die Hauptumwandlungstemperatur T_H mit der Konzentration zwischen 10 und 30 % verhält, beschreiben die beiden Regressionsgeraden zwischen 23 und 24°C: Für den Abkühlungsvorgang gilt

$$^{\circ}\text{C} = - 6.4 \cdot 10^{-3} \% + 23.6 ,$$

und für den Aufheizzyklus

$$^{\circ}\text{C} = - 2.2 \cdot 10^{-4} \% + 23.8 .$$

Beide Geraden zeigen also eine sehr geringe negative Steigung. Extrapoliert man die beiden Gleichungen, die für den vermessenen Konzentrationsbereich 10 bis 30 % gelten, auf 0 % E-9-Tetradecenal, so erhält man als Achsenabschnitte auf der Ordinate 23.6°C für $T_{H\downarrow}$ und 23.8°C für $T_{H\uparrow}$.

Diese Werte stimmen gut mit den Umwandlungstemperaturen der DML-Leerkurve von $24.0 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ ($T_{H\downarrow}$) und $23.7 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ ($T_{H\uparrow}$, vgl. IV.1.1. S. 132) überein, und rechtfertigen daher die lineare Annäherung.

Auch für alle anderen untersuchten Substanzen weichen diese extrapolierten Leerwerte von den tatsächlich gemessenen nur um ca. $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ab (vgl. Abb. 33, 34, S.218/9). Die graphischen Auftragungen 30 - 32 (S. 205 - 207) zeigen exemplarisch die drei auftretenden Typen der Abhängigkeit der Haupt-

umwandlungstemperatur von der Konzentration: E-9-Tetradecenal beeinflusst im untersuchten Konzentrationsbereich die Hauptumwandlung praktisch nicht (Abb. 30), während sie durch vergleichbare Konzentrationen von Tridecanol um ca. 3 - 4°C zu höheren (Abb. 31) und mit Z-9-Tetradecenal um ca. 5 - 6°C zu tieferen Temperaturen verschoben ist (Abb. 32).

Die nach der allgemeinen Geradengleichung

$$^{\circ}\text{C} = a_1 \% + a_0$$

errechenbaren Regressionskonstanten a_1 (Steigung) und a_0 (Ordinatenabschnitt der Geraden) sind in den Tabellen 13a - d (S. 210-217) für alle vermessenen gesättigten Alkohole und Pheromone in DML bzw. DPL zusammengefaßt.

Damit sind im Prinzip alle Phasenumwandlungstemperaturen sämtlicher getesteten Verbindungen direkt miteinander vergleichbar, was für die Hauptumwandlung beim Abkühlen ($T_H \downarrow$) die Auftragungen 33 für DML- (S.218) und 34 für DPL-Dispersionen (S.219) illustrieren, die bis zu 20 % Alkohol beziehungsweise Pheromon enthalten. Ein ähnliches Bild ergibt sich für die Hauptumwandlungstemperatur beim Aufheizen ($T_H \uparrow$; nicht graphisch dargestellt).

	$\tau_H \downarrow$		$\tau_V \downarrow$	
	a_1	$/ a_0$	a_1	$/ a_0$
8-OH	$-3 \cdot 10^{-2}$	$/ 24.6$ (50-160%)	$-7.1 \cdot 10^{-3}$	$/ 14.2$
	$-1 \cdot 10^{-2}$	$/ 21.5$ (160-500%)		
9-OH	$-5.6 \cdot 10^{-2}$	$/ 23.6$ (30-70%)	$5.2 \cdot 10^{-2}$	$/ 11.0$
	$-2.1 \cdot 10^{-2}$	$/ 21.7$ (50-120%)		
10-OH	$-2.3 \cdot 10^{-2}$	$/ 24.1$ (10-45%)	$-1.1 \cdot 10^{-1}$	$/ 18.0$
	$1.1 \cdot 10^{-1}$	$/ 18.2$ (45-60%)		
11-OH	$7.2 \cdot 10^{-2}$	$/ 23.5$	$1.7 \cdot 10^{-1}$	$/ 11.4$
12-OH	$2.8 \cdot 10^{-2}$	$/ 25.3$	$-9.4 \cdot 10^{-2}$	$/ 18.6$
13-OH	$6.6 \cdot 10^{-2}$	$/ 24.6$	$2.8 \cdot 10^{-1}$	$/ 13.4$
14-OH	$5.9 \cdot 10^{-2}$	$/ 24.7$	$1.7 \cdot 10^{-1}$	$/ 15.4$
15-OH	$9.8 \cdot 10^{-2}$	$/ 22.6$ (4-15%)	$-1.8 \cdot 10^{-1}$	$/ 15.1$ (4-20%)
	$-8.8 \cdot 10^{-3}$	$/ 24.0$ (15-60%)	$7 \cdot 10^{-2}$	$/ 9.1$ (20-40%)
16-OH	$-9.7 \cdot 10^{-3}$	$/ 24.1$	$-2 \cdot 10^{-2}$	$/ 13.5$
18-OH	$-9.1 \cdot 10^{-3}$	$/ 23.3$	$-6 \cdot 10^{-2}$	$/ 15.5$ (10-30%)
			$2 \cdot 10^{-2}$	$/ 10.1$ (40-60%)
20-OH	$-8.9 \cdot 10^{-3}$	$/ 23.4$	$4.6 \cdot 10^{-3}$	$/ 13.8$

Tab. 13a: Regressionskonstanten a_1 und a_0 für gesättigte Alkohole in DML ($\downarrow$: Abkühlen)

	$\tau_H \uparrow$		$\tau_V \uparrow$	
	a_1	$/ a_0$	a_1	$/ a_0$
8-OH	$-1.3 \cdot 10^{-2}$	/22.7	$-3.5 \cdot 10^{-3}$	/11.0
9-OH	$-3 \cdot 10^{-2}$	/22.8	$-4.4 \cdot 10^{-2}$	/12.6
10-OH	$-1.2 \cdot 10^{-2}$	/23.9 (10-45%)	$-4.2 \cdot 10^{-2}$	/16.5
	$1.4 \cdot 10^{-1}$	/17.0 (45-60%)		
11-OH	$1 \cdot 10^{-1}$	/22.7	$1.8 \cdot 10^{-1}$	/15.0
12-OH	$5.8 \cdot 10^{-2}$	/24.8	$2.3 \cdot 10^{-1}$	/16.4
13-OH	$1.1 \cdot 10^{-1}$	/23.9	$1.7 \cdot 10^{-1}$	/16.9
14-OH	$6.8 \cdot 10^{-2}$	/24.8	$1.5 \cdot 10^{-1}$	/15.7
15-OH	$1.9 \cdot 10^{-1}$	/22.9 (4-15%)	$7 \cdot 10^{-2}$	/13.6 (4-30%)
	$5.3 \cdot 10^{-3}$	/24.8 (15-60%)	$-1.1 \cdot 10^{-1}$	/19.1 (30-50%)
16-OH	$5.3 \cdot 10^{-2}$	/23.8 (4-25%)	$-7.6 \cdot 10^{-3}$	/14.5
	$-2.6 \cdot 10^{-2}$	/25.3 (20-60%)		
18-OH	$2.9 \cdot 10^{-4}$	/23.3	$6.6 \cdot 10^{-3}$	/12.4
20-OH	$1.3 \cdot 10^{-2}$	/22.6	$-7 \cdot 10^{-3}$	/12.0

Tab. 13a: Regressionskonstanten a_1 und a_0 für gesättigte Alkohole in DML ($\uparrow$: Aufheizen).

	$\tau_H \downarrow$		$\tau_V \downarrow$	
	a_1	$/ a_0$	a_1	$/ a_0$
Z-9:14-OH	$-2.7 \cdot 10^{-1}$	/ 24.2	$9.5 \cdot 10^{-2}$	/ 12.3
E-9:14-OH	$4.8 \cdot 10^{-2}$	/ 22.9	$6 \cdot 10^{-2}$	/ 14.9
Z-9,				
Z-11:14-OH	$9.3 \cdot 10^{-3}$	/ 23.2 (10-40%)	$3.1 \cdot 10^{-2}$	/ 14.7
	$1.4 \cdot 10^{-1}$	/ 17.8 (40-60%)		
Z-9:14-OAc	$-7.2 \cdot 10^{-2}$	/ 21.4 (10-40%)	$-1.2 \cdot 10^{-1}$	/ 14.5
	$4.3 \cdot 10^{-2}$	/ 17.9 (40-75%)		
E-9:14-Al	$-6.4 \cdot 10^{-3}$	/ 23.6	$-1.5 \cdot 10^{-2}$	/ 18.2
Z-11:16-OH	$-5.2 \cdot 10^{-2}$	/ 23.0	$-1.5 \cdot 10^{-1}$	/ 16.4
E-11:16-OH	$-1.6 \cdot 10^{-2}$	/ 23.1	$-2.5 \cdot 10^{-2}$	/ 13.9 (10-30%)
			$-4.9 \cdot 10^{-3}$	/ 17.9 (40-90%)
Z-11,				
Z-13:16-OH	$3.6 \cdot 10^{-2}$	/ 24.3	$2.3 \cdot 10^{-1}$	/ 14.9
Z-13:18-OH	$-6.8 \cdot 10^{-3}$	/ 23.0	$1.5 \cdot 10^{-2}$	/ 12.9
Z-13:18-OAc	$-2.2 \cdot 10^{-2}$	/ 22.9 (10-40%)	$-9.7 \cdot 10^{-2}$	/ 13.6
	$4 \cdot 10^{-2}$	/ 20.3 (35-60%)		
Z-13:18-Al	$1.2 \cdot 10^{-2}$	/ 22.5	$-1.1 \cdot 10^{-1}$	/ 13.4 (10-30%)
			$8.7 \cdot 10^{-2}$	/ 7.4 (30-60%)

Tab. 13b: Regressionskonstanten a_1 und a_0 für Pheromone in DML
($\downarrow$: Abkühlen).

	$T_H \uparrow$		$T_V \uparrow$
	a_1	$/ a_0$	a_1 $/ a_0$
Z-9:14-OH	$-2.6 \cdot 10^{-1}$	$/ 24.4$	$2 \cdot 10^{-1} / 12.3$
E-9:14-OH	$4 \cdot 10^{-2}$	$/ 23.2$	$2.6 \cdot 10^{-1} / 14.2$
Z-9,			
Z-11:14-OH	$1.7 \cdot 10^{-2}$	$/ 23.4$ (10-40%)	$1.5 \cdot 10^{-1} / 15.9$
	$1.1 \cdot 10^{-1}$	$/ 20.1$ (40-60%)	
Z-9:14-OAc	$-1.4 \cdot 10^{-1}$	$/ 24.3$ (10-40%)	$-6.4 \cdot 10^{-2} / 14.0$
	$1.2 \cdot 10^{-1}$	$/ 13.6$ (35-75%)	
E-9:14-Al	$-2.2 \cdot 10^{-4}$	$/ 23.8$	$4.2 \cdot 10^{-1} / 12.4$ (10-18%)
			$-9.2 \cdot 10^{-2} / 21.9$ (18-24%)
Z-11:16-OH	$-1.4 \cdot 10^{-2}$	$/ 22.6$	$1.4 \cdot 10^{-1} / 13.4$
E-11:16-OH	$-1.2 \cdot 10^{-3}$	$/ 23.0$	$6 \cdot 10^{-2} / 10.9$ (10-20%)
			$-9 \cdot 10^{-4} / 18.1$ (30-90%)
Z-11,			
Z-13:16-OH	$6.8 \cdot 10^{-2}$	$/ 24.0$	$3.9 \cdot 10^{-2} / 17.5$
Z-13:18-OH	$-2.1 \cdot 10^{-2}$	$/ 23.5$	$-9.5 \cdot 10^{-3} / 12.3$
Z-13:18-OAc	$-8.1 \cdot 10^{-2}$	$/ 24.0$ (10-40%)	$-1.1 \cdot 10^{-2} / 11.3$
	$7.8 \cdot 10^{-2}$	$/ 18.8$ (30-60%)	
Z-13:18-Al	$5.3 \cdot 10^{-3}$	$/ 23.3$	$1.3 \cdot 10^{-2} / 12.5$

Tab. 13b: Regressionskonstanten a_1 und a_0 für Pheromone in DML
($\uparrow$: Aufheizen).

	$T_H \downarrow$		$T_V \downarrow$
	a_1	$/$	a_0
8-OH	$-1.7 \cdot 10^{-2}$	$/42.0$	$-2.2 \cdot 10^{-2}/31.2$
9-OH	$-4.4 \cdot 10^{-2}$	$/41.2$	$(10-135\%)$
	$-9 \cdot 10^{-3}$	$/36.2$	$(135-400\%)$
10-OH	$-7.7 \cdot 10^{-2}$	$/40.9$	$(10-50\%)$
	$-1.6 \cdot 10^{-3}$	$/37.7$	$(40-100\%)$
11-OH	$-4.5 \cdot 10^{-2}$	$/40.7$	$(10-30\%)$
	$5.1 \cdot 10^{-2}$	$/37.8$	$(30-90\%)$
12-OH	$1.1 \cdot 10^{-2}$	$/40.9$	$(7-20\%)$
	$1.2 \cdot 10^{-1}$	$/38.7$	$(20-35\%)$
13-OH	$5 \cdot 10^{-2}$	$/41.1$	
14-OH	$6.1 \cdot 10^{-2}$	$/41.3$	
15-OH	$-7 \cdot 10^{-3}$	$/41.7$	
16-OH	$-1.6 \cdot 10^{-3}$	$/41.5$	
18-OH	$3.2 \cdot 10^{-4}$	$/41.2$	
20-OH	$-3.8 \cdot 10^{-3}$	$/41.3$	

Tab. 13c: Regressionskonstanten a_1 und a_0 für gesättigte Alkohole in DPL ($\downarrow$: Abkühlen)

	$T_H \uparrow$		$T_V \uparrow$	
	a_1	$/ a_0$	a_1	$/ a_0$
8-OH	$-1.7 \cdot 10^{-2}$	/ 41.9	$-1.9 \cdot 10^{-2}$	/ 31.7
9-OH	$-4.1 \cdot 10^{-2}$	/ 41.0 (10-135%)	$-6.4 \cdot 10^{-2}$	/ 32.1
	$-1.3 \cdot 10^{-2}$	/ 36.9 (135-400%)		
10-OH	$-7.7 \cdot 10^{-2}$	/ 40.8 (10-50%)	$-2.2 \cdot 10^{-1}$	/ 34.0
	$-3.4 \cdot 10^{-3}$	/ 37.9 (40-100%)		
11-OH	$-2.2 \cdot 10^{-2}$	/ 40.3 (10-30%)	$-2.4 \cdot 10^{-2}$	/ 32.2
	$5.6 \cdot 10^{-2}$	/ 37.9 (30-90%)		
12-OH	$2.9 \cdot 10^{-2}$	/ 40.6 (7-20%)	$1.9 \cdot 10^{-1}$	/ 32.1
	$7.7 \cdot 10^{-2}$	/ 39.7 (20-35%)		
13-OH	$6.5 \cdot 10^{-2}$	/ 40.7	$4.6 \cdot 10^{-1}$	/ 29.0
14-OH	$8.2 \cdot 10^{-2}$	/ 41.2	$9.3 \cdot 10^{-2}$	/ 33.8
15-OH	$7.7 \cdot 10^{-3}$	/ 41.8	$4.2 \cdot 10^{-2}$	/ 34.0
16-OH	$-5.7 \cdot 10^{-3}$	/ 41.8	$-5.8 \cdot 10^{-3}$	/ 34.7
18-OH	$1.1 \cdot 10^{-3}$	/ 41.0	$-1.1 \cdot 10^{-2}$	/ 32.9
20-OH	$6.3 \cdot 10^{-4}$	/ 41.0	$-2.9 \cdot 10^{-2}$	/ 32.4

Tab. 13c: Regressionskonstanten a_1 und a_0 für gesättigte Alkohole in DPL ($\uparrow$: Aufheizen).

	$T_H \downarrow$		$T_V \downarrow$
	a_1	/	a_0
Z-9:14-OH	$-1.8 \cdot 10^{-1}$	/40.6	$-9.6 \cdot 10^{-2}$ /29.7
E-9:14-OH	$4.3 \cdot 10^{-3}$	/40.2	$2.9 \cdot 10^{-2}$ /31.5
Z-9,			
Z-11:14-OH	$-5.9 \cdot 10^{-2}$	/40.5	$6.9 \cdot 10^{-2}$ /30.0
Z-9:14-OAc	$-1.7 \cdot 10^{-1}$	/40.1 (10-50%)	$-1.8 \cdot 10^{-1}$ /29.9 (10-20%)
	$1.8 \cdot 10^{-2}$	/32.4 (40-90%)	$1.3 \cdot 10^{-1}$ /24.8 (20-29%)
E-9:14-Al	$-8.2 \cdot 10^{-2}$	/41.0	$-3 \cdot 10^{-2}$ /31.9
Z-11:16-OH	$-7.4 \cdot 10^{-2}$	/40.5	$-1.9 \cdot 10^{-1}$ /31.9
E-11:16-OH	$-6.3 \cdot 10^{-3}$	/40.2	$1.1 \cdot 10^{-2}$ /29.0
Z-11,			
Z-13:16-OH	$-7.3 \cdot 10^{-3}$	/41.0	$1.1 \cdot 10^{-1}$ /31.2
Z-13:18-OH	$-5.5 \cdot 10^{-3}$	/39.8	$2.2 \cdot 10^{-3}$ /28.4
Z-13:18-OAc	$2.6 \cdot 10^{-2}$	/40.2 (10-40%)	$-3 \cdot 10^{-2}$ /30.1 (10-20%)
	$2.6 \cdot 10^{-2}$	/37.7 (45-65%)	$4 \cdot 10^{-2}$ /31.2 (30-45%)
Z-13:18-Al	$2.2 \cdot 10^{-3}$	/40.4	$8.6 \cdot 10^{-3}$ /29.8

Tab. 13d: Regressionskonstanten a_1 und a_0 für Pheromone in DPL
($\downarrow$: Abkühlen).

	$\tau_H \uparrow$		$\tau_V \uparrow$			
	a_1	$/$	a_0	a_1	$/$	a_0
Z-9:14-OH	$-2.7 \cdot 10^{-1}$		42.1	$-1.7 \cdot 10^{-2}$		31.7
E-9:14-OH	$8.5 \cdot 10^{-3}$		40.4	$1.3 \cdot 10^{-1}$		35.3
Z-9,						
Z-11:14-OH	$-6.4 \cdot 10^{-2}$		40.5	$-3.6 \cdot 10^{-2}$		34.7
Z-9:14-OAc	$-1.7 \cdot 10^{-1}$		40.3 (10-40%)	$-1.7 \cdot 10^{-1}$		32.0 (10-20%)
	$-4.4 \cdot 10^{-2}$		36.9 (40-90%)	$1.6 \cdot 10^{-1}$		25.6 (20-25%)
E-9:14-Al	$-7.9 \cdot 10^{-2}$		40.9	$1.7 \cdot 10^{-2}$		35.2
Z-11:16-OH	$-6.7 \cdot 10^{-2}$		40.1	$1.7 \cdot 10^{-1}$		34.5
E-11:16-OH	$-1.1 \cdot 10^{-2}$		40.5	$1.1 \cdot 10^{-2}$		33.5
Z-11,						
Z-13:16-OH	$1.3 \cdot 10^{-2}$		40.8	$2.9 \cdot 10^{-1}$		34.5
Z-13:18-OH	$-6.5 \cdot 10^{-4}$		39.7	$4.9 \cdot 10^{-3}$		33.1
Z-13:18-OAc	$9.4 \cdot 10^{-3}$		40.8 (10-40%)	$-8 \cdot 10^{-2}$		33.7 (10-20%)
	$-2 \cdot 10^{-3}$		39.9 (45-65%)	$-3.3 \cdot 10^{-2}$		35.9 (25-65%)
Z-13:18-Al	$2.6 \cdot 10^{-3}$		40.9	$1.9 \cdot 10^{-2}$		34.9

Tab. 13d: Regressionskonstanten a_1 und a_0 für Pheromone in DPL
($\uparrow$: Aufheizen).

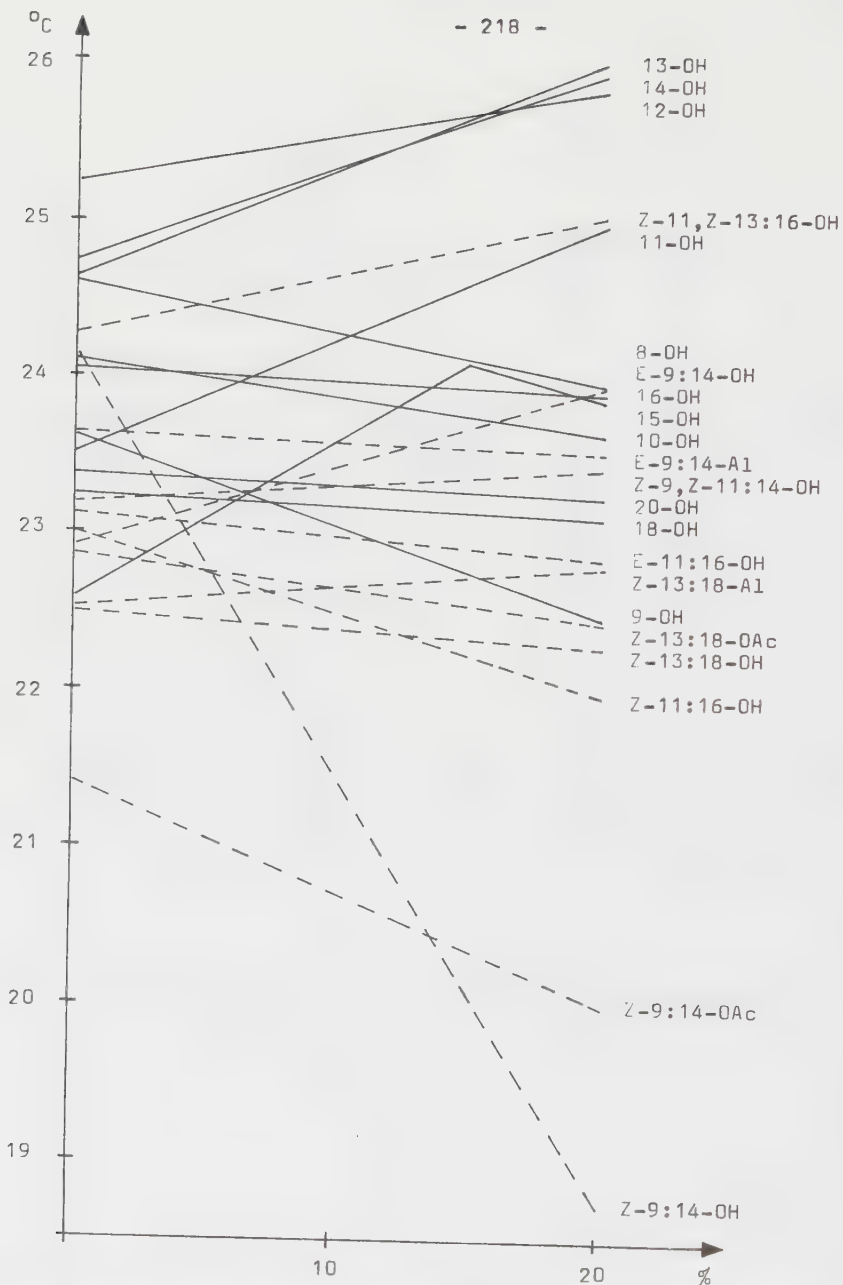


Abb. 33: Hauptumwandlungstemperaturen von dotierten DML-Dispersionen
(beim Abkühlen).

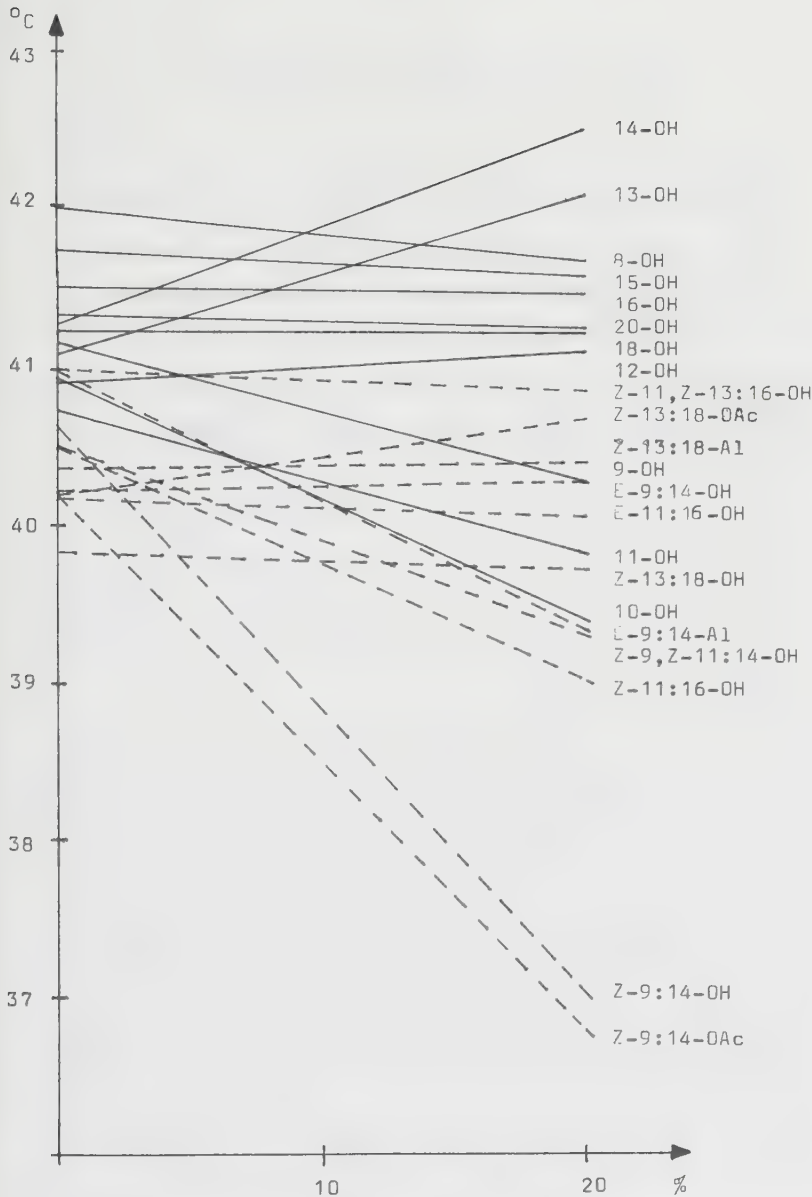


Abb. 34: Hauptumwandlungstemperaturen von dotierten DPL-Dispersionen (beim Abkühlen).

3. Deutung der beobachteten Phänomene

Betrachtet man die beiden letzten Abbildungen 33 und 34, welche beschreiben, wie sich die Hauptumwandlungstemperatur der Lecithindispersion beim Abkühlen mit der Konzentration des lipidfremden Bestandteils ändert, im Hinblick auf das Verhalten der homologen gesättigten Alkohole Octanol bis Eicosanol bei gleicher Konzentration, so läßt sich primär eine Grobeinteilung in drei Gruppen erkennen:

Die kürzerkettigen Alkanole ergeben eine, im Vergleich zum alkoholfreien Lipid, Verschiebung des Phasenüberganges zu tieferer Temperatur, die Alkohole mittlerer Länge zu höherer und die längstkettigen untersuchten Fettalkohole beeinflussen die Temperatur der Phasenhauptumwandlung praktisch nur noch minimal.

Da sich weiters Unterschiede zwischen DML und DPL zeigen und die Abbildungen 33 / 34 auch nur den Konzentrationsbereich bis zu einem Gehalt von 20 % Alkohol im Lecithin abdecken, ist eine genauere und umfassendere Analyse notwendig. Dazu werden einfach die die Steigung der Regressionsgeraden darstellenden Konstanten a_1 aus den Tabellen 13a (für DML, S. 210) beziehungsweise 13c (für DPL, S. 214) in Abbildung 35 (S. 221) gegen die Kettenlänge der Alkohole auftragen.

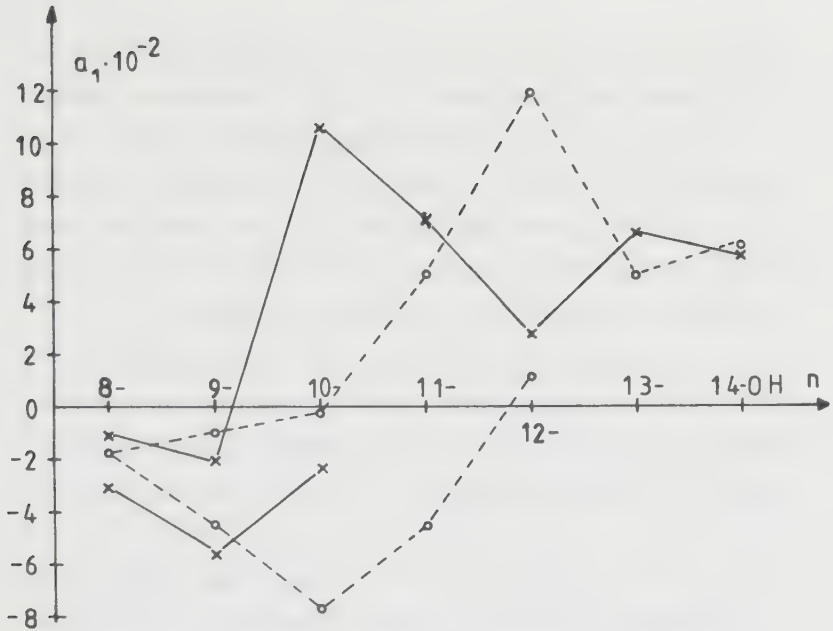


Abb. 3b: Regressionskonstanten a_1 der Alkanole in DML (x) und DPL (o) beim Abkühlen.

Treten bei ein- und demselben Lecithin zwei a_1 -Werte für den gleichen Alkohol auf, wie z. B. für Octanol in DML, so bedeutet dies, daß die Regressionsgerade, welche die Phasenumwandlungstemperatur als Funktion der Alkoholkonzentration darstellt, aus zwei linearen Teilstücken unterschiedlicher Steigung a_1 zusammengesetzt ist, das Konzentrationsverhalten insgesamt also nichtlinear ist.

Zuerst sei der Kurvenzug für DML in Abbildung 35 diskutiert und mit der Abbildung 23 (S. 187) verglichen, welche die kritischen Alkoholkonzentrationen angibt, die die Vorumwandlung zum Verschwinden bringen: Für Octanol und Nonanol findet man je zwei Regressionskonstanten von negativem Vorzeichen und die kritischen Konzentrationen beider Alkanole liegen in Abbildung 23 auf einer Geraden.

Auch die Alkohole der Kettenlänge $n = 11-14$ liegen in Abbildung 23 auf einer Geraden (von anderer Steigung), nur besitzen sie jetzt in Abbildung 35 ausschließlich positive Koeffizienten der Steigung a_1 und jeweils nur einen a_1 -Wert.

Decanol in DML hingegen läßt sich keiner der beiden Gruppen zuordnen, es beansprucht eine Zwischenposition; und zwar erniedrigt es bis zu einem Gehalt von 45 % die Hauptumwandlungstemperatur, darüber führt es zu einer Erhöhung. Dementsprechend gelten für Decanol in DML Steigungskonstanten a_1 sowohl von negativem wie von positivem Vorzeichen (Abb. 35). Der entsprechende Vergleich der Abhängigkeit der Steigungskonstanten a_1 von der Alkoholkettenlänge der Kurve der Abbildung 35 für DPL mit den kritischen Konzentrationen (Abb. 24, S. 188) ergibt ein analoges Bild:

Erniedrigung der Hauptübergangstemperatur für $n = 8-10$, Wende bei Undecanol und Erhöhung für $n = 12-14$.

Der Zwitterstellung von Decanol in DML entspricht also die Rolle von Undecanol in DPL. Der Grund für dieses unterschiedliche und doch analoge Verhalten der Alkanole in DML und DPL

soll später erörtert werden.

Daß die Verschiebbarkeit der Hauptumwandlung (Abb. 35, S. 221) mit der kritischen Konzentration (Abb. 23/4, S. 187/8), welche die Vorumwandlung betrifft, korreliert, wird verständlich, wenn man sich vergegenwärtigt, daß sowohl Vor- wie Hauptumwandlung Vorgänge hoher Kooperativität sind, und sich die Störung durch denselben Alkohol auf beide in gleicher Weise auswirkt.

Wie aber ist es vom Prinzip her überhaupt möglich, daß gesättigte Alkohole (und Pheromone) je nach Länge ihrer Alkylkette die Temperatur der Phasenübergänge von wässrigen Lecithindispersionen einmal zu höheren und einmal zu tieferen Werten verschieben?

Eine Antwort auf diese Grundsatzfrage kann eine physikalisch-chemische Betrachtung der Thermodynamik der Phasenumwandlung geben, die speziell die Domänenstruktur der Lipidmembran berücksichtigt. Erhöhung beziehungsweise Erniedrigung der Lipidphasenübergangstemperatur durch inkorporierte Fremdmoleküle interpretiert man dabei im Sinne einer Lösungspräferenz: Je nach ihrer Struktur werden die lipidfremden Substanzen bevorzugt in Lipiddomänen eingebaut, die sich entweder in der fluiden oder in der Gelphase befinden. Im Bereich der Phasenhauptumwandlung ⁽³⁰⁾ und wohl auch im gesamten Zwischenzustand existieren nebeneinander abgegrenzte Lipidbezirke in der fluid-kristallinen und der Gelform im dynamischen Gleichgewicht. Für die Lösung in der Membran sucht sich das fremde Molekül aus den beiden

zur Verfügung stehenden Ordnungszuständen der Lipiddoppelschicht denjenigen aus, der seiner eigenen Struktur am ähnlichsten ist, denn dadurch ergibt sich sowohl eine Optimierung der Löslichkeit wie auch eine Minimierung der mit dem Einbau in die Membran verbundenen, prinzipbedingten Störung der kolligativen Lipid-Lipid-Wechselwirkungen, die für die Vorgänge bei den Phasenumwandlungen verantwortlich sind. Die mit dem Fremdmoleküleinbau verursachte Abnahme der Lipid-Kooperativität bedeutet, daß die Lipidcluster im Durchschnitt kleiner sind in Gegenwart lipidfremder Substanzen als im reinen Lipid (62, 158), die Größe der sogenannten kooperativen Einheit also verringert ist. Die geschilderte Vorstellung ist nichts anderes als eine Anwendung des alten Satzes "similia similibus solvuntur", unter Einbeziehung membran-spezifischer Aspekte. Das Modell wurde erstellt für langkettige Fettsäuren, die, wie Alkanole, die Umwandlungen von Lipidphasen ineinander ebenfalls zu tieferer oder höherer Temperatur verschieben (159).

Betrachtet man eine dotierte Membran als Lösung einer Fremdschubstanz im Lösungsmittel Lipid, so ergeben sich folgende Beziehungen: Für ein reines Lecithin gilt bei der Temperatur der Hauptumwandlung, daß die chemischen Potentiale P der Gelphase und des fluid-kristallinen Zustandes einander gleich sind.

$$P_g = P_{fl} \quad (1)$$

Das Potential des Lösungsmittels Lecithin ändert sich in Anwesenheit von lipidfremden Molekülen gemäß

$$P = P^0 + RT \ln X, \quad (2)$$

wobei P^0 das chemische Potential des reinen Lecithins, R die allgemeine Gaskonstante, T die Temperatur in Grad Kelvin und X den Molenbruch des Lösungsmittels in der Lösung bedeuten. Durch Einsetzen von Gleichung (2) in (1) folgt für ein dotiertes Lecithin

$$P^0_g + RT \ln X_g = P^0_{f1} + RT \ln X_{f1} \quad (3)$$

mit X_g beziehungsweise X_{f1} als Molenbruch des Lipids in der Gel- beziehungsweise fluid-kristallinen Phase, oder nach Umstellung

$$P^0_{f1} - P^0_g = RT \ln \frac{X_g}{X_{f1}}. \quad (4)$$

Andererseits ist die freie Energie ΔG^0 der Phasenumwandlung des reinen Lecithins gegeben durch

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \Delta S^0 = P^0_{f1} - P^0_g \quad (5)$$

mit ΔH^0 und ΔS^0 als Enthalpie beziehungsweise Entropie der Umwandlung des reinen Lipids und T als experimenteller Phasenübergangstemperatur. Für $T = T_0$ (ohne Fremdschubstanz) wird $X_g = X_{f1}$ und damit nach Gleichung (4)

$$\Delta G^0 = 0, \text{ d. h.}$$

$$\Delta S^0 = \frac{\Delta H^0}{T_0}. \quad (6)$$

Aus (4) und (5) erhält man mit (6)

$$RT \ln \frac{X_g}{X_{f1}} = \Delta H^0 - T \cdot \frac{\Delta H^0}{T_0} \quad \text{beziehungsweise}$$

$$R \ln \frac{X_g}{X_{f1}} = \Delta H^0 \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right). \quad (7)$$

Dabei ist angenommen, daß die Umwandlungsenthalpie mit und ohne Fremdschubstanz die gleiche ist. Läßt man diese Verein-

fachung beiseite (160), so ergibt sich entsprechend

$$R \ln \frac{x_g}{x_{fl}} = \frac{\Delta H}{T} - \frac{\Delta H^0}{T_0} \quad (7a)$$

Auflösen der Gleichung (7) nach T und Ersetzen des Verhältnisses $\frac{x_g}{x_{fl}}$ durch a liefert eine Beziehung für die

Hauptumwandlungstemperatur T einer dotierten Lecithinmatrix in Relation zum reinen Lecithin (T_0):

$$T = T_0 \left(\frac{\Delta H^0}{\Delta H^0 + RT_0 \ln a} \right) \quad (8)$$

Da der Phasenübergang endotherm abläuft, ist ΔH^0 positiv; T kann sich also nur mit dem Verhältnis $a = \frac{x_g}{x_{fl}}$ der Molenbrüche des Lecithins in seiner Gelphase beziehungsweise fluid-kristallinen Form ändern.

Zeigt das lipidfremde Molekül beim Einbau ins Lecithin weder eine Vorliebe für den Gelzustand noch für die fluide Phase, so gilt bei der Temperatur T

$$\frac{x_g}{x_{fl}} = 1 \text{ und } \ln a = 0, \text{ d. h. } T = T_0,$$

was bedeutet, daß der Einbau eines solchen Moleküls ins Lipid die Temperatur der Phasenhauptumwandlung in Relation zum reinen Lipid praktisch nicht ändert.

Bevorzugt die Fremdsubstanz hingegen z. B. die gelförmigen Lecithindomänen, so wird dadurch der Molenbruch des reinen Lecithins in der Gelphase verringert, und es ergibt sich

$$\frac{x_g}{x_{fl}} < 1 \text{ sowie } \ln a < 0.$$

Damit wird der Nenner des Bruches in Gleichung (8) kleiner als der Zähler und für die neue Umwandlungstemperatur gilt $T > T_0$, also eine Erhöhung. Analog zeigt sich für den Einbau lipidfremder Komponenten vornehmlich in die im fluid-kristallinen Zustand befindlichen Lipidcluster eine Erniedrigung der Phasenübergangstemperatur im Vergleich zur undotierten Lecithindispersion gemäß

$$\frac{x_g}{x_{f1}} > 1 \quad \text{und} \quad \ln a > 0, \text{ d. h. } T < T_0.$$

Diese Vorstellung liefert also eine phänomenologisch plausible Erklärung dafür, warum manche Substanzen zu einer Erhöhung der Phasenumwandlungstemperatur führen, während andere sie erniedrigen. Hiermit läßt sich für die getestete homologe Reihe der Alkanole eine zusammenfassende Aussage treffen (vgl. Abb. 35, S. 221):

In DML-Dispersionen werden Octanol und Nonanol ausschließlich in die fluiden Domänen inkorporiert, sie senken dadurch den Hauptumwandlungspunkt ab; Decanol zeigt keine Präferenz, es wird sowohl in fluide wie in gelförmige Bezirke aufgenommen, die Phasenübergangstemperatur kann entsprechend erniedrigt oder erhöht sein; Undecanol bis Tetradecanol bevorzugen beim Einbau in die DML-Matrix eindeutig Cluster im Gelzustand und erhöhen dadurch die Umwandlungstemperatur. Für die DPL-Dispersion hingegen gilt, daß die Alkohole der Kettenlänge $n = 8-10$ fluide und solche mit $n = 12-14$ gelförmige Lecithindomänen beim Einbau bevorzugen; Undecanol

verwirklicht beide Möglichkeiten, und die Temperatur T_H der Phasenumwandlung ist jeweils entsprechend verschoben.

Dies ist zwar eine prinzipielle Ausdeutung der beobachteten Effekte, die aber noch keineswegs zufriedenstellt. Vielmehr wirft sie die Ausgangsfrage erneut und in präziser Form noch einmal auf, denn weiterhin ist ungeklärt, welche Rolle die unterschiedliche Kettenlänge der verschiedenen Alkanole spielt, und woher die Differenzen mit den beiden homologen Lecithinen stammen.

Das Glycerin-Rückgrat von Phospholipiden verbindet die Fettsäureketten des hydrophoben Membraninnern mit den polaren Kopfgruppen der hydrophilen Membranoberfläche (s. Abb. 6a, S. 34). Während zur Aufklärung der Konformation und des Temperaturverhaltens der Acylreste erfolgreich Reportermoleküle (wie bei der Elektronenspinresonanz und der Fluoreszenz) in geringer Konzentration eingesetzt werden können, ist dieser Weg für die polaren Gruppen nicht mehr gangbar, denn im hydrophilen Bereich der Phospholipide bringen bereits kleine strukturelle Veränderungen signifikante Unterschiede der Lipidübergänge mit sich. Die Kopfgruppenkonformation von Phospholipiden wird daher am besten mit Hilfe der Struktur und Dynamik nicht störender Techniken untersucht, wie zum Beispiel der magnetischen Resonanz der ^1H -Kerne und des ^{31}P -Kerns, die in allen natürlichen Phospholipiden vorkommen, bzw. der ^2H -Kernresonanz spezieller deuterierter Lipide. Weitere störungsfreie Meßmethoden, die ein statisches Bild der Kopfgruppen vermitteln, sind Neu-

tronenbeugung und Röntgenstrukturanalyse.

In der Literatur verfügbar sind Kristallstrukturen von 1,2-Dilauroyl-DL-phosphatidylethanolamin⁽¹⁶¹⁾ (DLPE·HOAC: monoklin, Raumgruppe $P2_1/c$), das mit einem Molekül Essigsäure kristallisiert, sowie von 1,2-Dimyristoyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholin⁽³⁴⁾, als Dihydrat (DMPC·2H₂O: monoklin, Raumgruppe $P2_1$). In beiden Verbindungen ist der Glycerinteil (fast) senkrecht zur Doppelschichtoberfläche orientiert, wobei die sn1-Fettsäurekette (sn = stereospecific numbering), die am C₁-Atom des Glycerins sitzt, zusammen mit dem Glyceringerüst eine antiplanare Zick-Zack-Anordnung in der Senkrechten bildet. Die sn2-Kette hingegen beginnt parallel zur Schichtoberfläche und knickt erst ab ihrem zweiten C-Atom in die senkrechte Richtung um (vgl. Abb. 8b, S. 55). Der Torsionswinkel um die C₂-C₃-Bindung des Glycerinteils beträgt +58° (gauche) und +169° (trans) in den beiden DMPC-Konformationen (vgl. Abb. 8a,b) und -52° (gauche) in DLPE⁽¹³⁶⁾. Daraus kann man den Schluß ableiten, daß in unterschiedlichen Phospholipidtypen in Bezug auf diese Bindung keine gemeinsame statische Konformation vorliegt. Die Einheitszelle von DMPC·2H₂O⁽³⁴⁾ besteht aus beiden gerade erwähnten Konformeren, die sich zueinander angenähert wie Bild und Spiegelbild verhalten. Diese Feststellung trifft aber nur für die polare Kopfgruppe zu, und nicht für den Diglyceridteil des Lipids. Vergleicht man die Strukturen der polaren Köpfe von DLPE·HOAC und DMPC·2H₂O, so zeigt sich, gemäß den gefundenen Torsionswinkeln, daß sie deutlich voneinander verschiedene

Konformationen annehmen.

Die intermolekularen Verknüpfungen durch Wasserstoffbrücken unterscheiden sich in beiden Lipiden. In DLPE-Kristallen, die kein Wasser enthalten, bilden sich Wasserstoffbrückenbindungen direkt zwischen dem (positiv geladenen) Stickstoff und dem (negativ geladenen) nichtveresterten Phosphatsauerstoff benachbarter Moleküle (161). DMPC-Kristalle hingegen enthalten pro Lipid zwei Moleküle Wasser, welche die zwischenmolekulare Wechselwirkung durch Wasserstoffbrücken vermitteln. Dabei sind die Phosphatsauerstoffatome der beiden oben erwähnten Konformeren in der DMPC-Einheit zelle über Wasserstoffbrücken durch je ein Wassermolekül miteinander verbunden. Insgesamt ergibt sich eine helicale Wasserstruktur, wodurch die Lipiddoppelschichten in ihrer Lage zueinander stabilisiert werden. Es wurde vermutet, daß das Auftreten der Vorumwandlung mit einer spezifischen Wechselwirkung der polaren Cholingruppe mit einer umgebenden, strukturierten Wassermatrix verknüpft ist (84). Darum ist die Temperatur interessant, bei der die Strukturanalyse von $\text{DMPC} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ vorgenommen wurde, nämlich zwischen 10 und 15°C , d. h. also, im Bereich der Vorumwandlungstemperatur. DLPE bildet Wasserstoffbrücken ohne die Mithilfe von Wasser aus. Das stimmt mit der Beobachtung überein, daß Phosphatidylethanolamin-Doppelschichten aus der Luft nur sehr wenig Feuchtigkeit aufnehmen, anders als Phosphatidylcholine.

Die Phosphatgruppe verbindet die eigentliche polare Kopfgruppe mit dem Glycerinteil der Lipide. Winkelabhängige

^{31}P -NMR-Spektren von orientierten Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC)-Multidoppelschichten ⁽¹⁶²⁾ führen zu dem Resultat, daß die O-P-O-Ebene der nichtveresterten Sauerstoffatome der Phosphatgruppe mit der Normalen auf die Doppelschicht einen Winkel von $47 \pm 5^\circ$ einschließt. Die beiden veresterten Sauerstoffatome der Phosphatgruppe bilden je eine +g-Konformation zur Cholingruppe bzw. zum Glycerinteil. Diese Anordnung ergibt sich auch in den DLPE-Einkristallen ⁽¹⁶¹⁾. Das hat zur Folge, daß die Cholingruppierung in Lecithinen (PC) ebenso wie die Ethanolammoniumkopfgruppe in Phosphatidylethanolaminen (PE) angenähert parallel zur Oberfläche der Lipiddoppelschicht liegt (vgl. Abb. 9, S. 57), denn die O-C-C-N-Kopfgruppe weist um die C-C-Bindung in beiden zwitterionischen Phospholipiden ungefähr eine gauche Konformation ^(163, 164) auf (vgl. Abb. 8, S. 55), mit einer Abweichung von $20\text{--}30^\circ$ vom echten Gauchewinkel. Ethanolamin- und Cholin-Kopfgruppe unterscheiden sich nur im Vorzeichen dieser Gauchekonformation (PE : +g; PC : -g).

Das gleiche, wichtige Ergebnis zeigt auch die Neutronenbeugung an selektiv deuterierten DPPC-Doppelschichten ⁽³⁶⁾: Die durchschnittliche Orientierung der Phosphocholingruppe ist fast parallel zur Membranoberfläche, und zwar unabhängig vom Wassergehalt der Probe und unabhängig von der Temperatur, d. h. sowohl in der Gelphase wie im flüssig-kristallinen Zustand.

Zum dynamischen Bild der Phosphocholinkopfgruppe ist zu sagen, daß die beobachteten Änderungen der experimentellen Daten

(^2H -, ^{31}P -NMR) mit der Temperatur mit kleinen konformationellen Unterschieden erklärt werden können. Die beiden Extremfälle der freien Rotation um alle Bindungen des Phosphocholinsegments (165) sowie eine vollständig starre Kopfgruppe (43b) sind ausgeschlossen. Das einfachste Modell der Bewegung der Phosphocholinkopfgruppe, welches am besten mit allen gemachten Beobachtungen konform geht, nimmt an, daß die bei der Strukturanalyse von DMPC $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (vgl. oben, S. 229) gefundenen, fast spiegelbildlichen Kopfgruppenkonformationen auch die wahrscheinlichsten Konformeren der flüssig-kristallinen Phase in wässriger Dispersion sind, wenn zusätzlich schnelle Übergänge zwischen diesen beiden Zuständen auftreten (164). Diese Vorstellung stützt sich auf NMR-Daten, die mit reinem beziehungsweise cholesterinhaltigem DPPE oder DPPC erhalten wurden (166,167). Das Modell muß aber nicht beschränkt bleiben auf nur einen einzigen Satz von Torsionswinkeln der Kopfgruppe, sondern es lassen sich, wegen der prinzipiellen Flexibilität der Cholingruppe, viele solcher "fast-enantiomeren" Konformationen mit den gefundenen ^2H - und ^{31}P -NMR-Ergebnissen vereinbaren (168).

Nach dieser Beschreibung der Konformation und Orientierung der Kopfgruppen einzelner Phospholipidmoleküle ergibt sich als daraus folgendes Problem die Frage nach der räumlichen Struktur eines Lipidensembles und seiner intra- und intermolekularen Wechselwirkungen, d. h. wie die Lipiddoppelschicht aufgebaut ist. Eine eindeutige Antwort hierauf zeigen die Arbeiten von Yeagle et al. (169-172), welche sich des Nukle-

aren Overhauser Effektes (NOE) bedienen. Hierunter versteht man eine Vergrößerung der Intensität des ^{31}P -NMR-Signals, wenn man die Protonen durch Einstrahlung ihrer Resonanzfrequenz sättigt. Räumlich dem Phosphor nahestehende Protonen oder Protonengruppen sind durch einen dipolaren Relaxationsmechanismus an diesen gekoppelt und rufen so die Intensitätserhöhung des beobachteten ^{31}P -Signals hervor. Als hauptsächliche Quelle für den Nuklearen Overhauser Effekt wurden in reinen Phosphatidylcholinen die Methylprotonen am Stickstoff der Cholingruppierung identifiziert, während die der Phosphatgruppe nächst benachbarten Methylenprotonen einen geringeren Beitrag leisten. Die relative Effektivität eines bestimmten Protons bei der Erzeugung des $^{31}\text{P}(^1\text{H})$ -NOE hängt sehr stark (mit der sechsten Potenz) vom Abstand des betrachteten Protons vom Phosphorkern ab ⁽¹⁷⁰⁾. Das erste wichtige Ergebnis dieser Experimente lautet daher, daß die positive Trimethylammoniumfunktion einer negativen Phosphatgruppe direkt benachbart sein muß, womit aber noch nicht entschieden ist, ob diese anziehende elektrostatische Wechselwirkung intra- oder intermolekular erfolgt (vgl. z. B. Abb. 8, S.55). Diese Frage wurde elegant gelöst, wieder mit Hilfe des $^{31}\text{P}(^1\text{H})$ -NOE, und zwar durch Zumischen von Phosphatidylethanolamin (PE) zu Phosphatidylcholin (PC) ⁽¹⁷¹⁾. Die Aminprotonen von PE leisten keinen signifikanten Beitrag zum NOE. Die ^{31}P -NMR-Signale in den gemischten PC/PE-Vesikeln sind gut aufgelöst, und sie zeigen beide eine größere Intensität, wenn man auf die gemischten Vesikel mit der Resonanzfrequenz der

N-methylprotonen von PC einstrahlt. Da die Methylprotonen am Stickstoff der Cholingruppe die primäre Ursache des NOE in reinem PC sind, müssen sie daher auch für den beobachteten NOE des PE in der PC/PE-Mischung verantwortlich sein. Das heißt aber nichts anderes, als daß die N-methylgruppen des Phosphatidylcholins in enger Wechselwirkung mit den Phosphatgruppen benachbarter Phospholipide stehen, in diesem Fall also sowohl mit Phosphatidylcholin- wie mit Phosphatidylethanolaminmolekülen. Wenn nun, wie gesehen, die Protonen des einen Moleküls (PC) den Relaxationsmechanismus am Phosphor eines anderen, strukturell verschiedenen, Moleküls (PE) bestimmen, dann muß die elektrostatische Wechselwirkung beider intermolekular sein (43a). Die Oberfläche der Doppelschicht im PC/PE-System besteht daher, laut NOE, aus in engem räumlichen Kontakt stehenden, zwitterionischen Kopfgruppen, wobei die positiv geladene N-methylgruppierung eines jeden PC-Moleküls assoziiert ist mit den negativen Phosphatsauerstoffatomen benachbarter Phospholipide. Diese elektrostatisch günstige Kopfgruppen-Orientierung impliziert eine vorwiegend parallele Anordnung der elektrischen Dipole zur Doppelschichtoberfläche. Dieses Bild darf jedoch nicht als statisches Modell verstanden werden. Es ist vielmehr als sehr dynamisch zu interpretieren, da die Trimethylammoniumgruppe in einem polaren Kopf in kurzer Zeit mit vielen verschiedenen benachbarten Phosphatsegmenten wechselwirken kann. Die geschilderte Vorstellung beläßt den verschiedenen Bindungen der Kopfgruppe noch beträchtliche Rotationsmöglichkeiten

einschließlich größerer Abweichungen von beschränkter Wahrscheinlichkeit von der bevorzugten durchschnittlichen Konformation, und sie schließt auch zwanglos die in der Cholin-Gruppe zwischen den beiden Kohlenstoffatomen gefundene (ungefähre) gauche-Konformation mit ein (43b).

Die kombinierte Anwendung von ^{31}P - und ^2H -NMR, NOE, Neutronenbeugung und Röntgenstrukturanalyse ergibt also Übereinstimmung für die Konformation der Kopfgruppen der drei häufigsten Phospholipide Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin und Sphingomyelin (vgl. Abb. 1, S. 8) ein ganz ähnliches Bild: Die polaren Kopfgruppen sind fast parallel zur Oberfläche der Doppelschicht angeordnet, und sie stehen miteinander in einer anziehenden elektrostatischen Wechselwirkung. Die daraus resultierende Struktur der polaren Membranoberfläche ist bestimmt wichtig für Interaktionen einer Membran mit Partnern wie Metallionen oder Proteinen. Auch die Existenz einer geordneten Wasserschicht unmittelbar an der Oberfläche der Lipiddoppelschicht erscheint damit verständlich, denn die Verteilung der Ladungen auf der Grenzfläche Membran/Wasser wird die Anordnung der Wassermoleküle bestimmen (vgl. (34)). Umgekehrt sollte aber auch jede derartige Wechselwirkung einer Lipiddispersion mit lipidfremden Substanzen einen spezifischen Effekt auf die Struktur der Membranoberfläche, d. h. auf intermolekulare Orientierung und Konformation der dipolaren Lipidköpfe haben, was sich in einem veränderten Phasenumwandlungsverhalten im Vergleich zum reinen Phospholipid zu

erkennen geben kann.

Die bisher aufgeführten physikalischen Untersuchungsmethoden konnten erfolgreich die durchschnittliche Orientierung der Lipid-Kopfgruppen bestimmen. Zwitterionische Phospholipide haben ein ziemlich großes permanentes Dipolmoment (Phosphatidylcholine ca. 18 Debye). Für solche Lipide ist der Dipol eine nützliche, natürliche Sonde bei dielektrischen Relaxationsuntersuchungen zur Bestimmung der Bewegung der Kopfgruppe. Durch die Temperaturabhängigkeit der Relaxationsfrequenz konnte nach diesem Prinzip für DPPC sowohl die Haupt- wie auch die Vorumwandlung nachgewiesen werden (173), und zwar durch die Verminderung der intermolekularen Wechselwirkung auf Grund der vergrößerten Abstände zwischen benachbarten Phosphatidylcholin-Kopfgruppen in der flüssig-kristallinen Phase im Vergleich zur Gelphase. Auch mit dieser Methode wurde bestätigt, daß die polaren Köpfe in einer Ebene beinahe parallel zur Doppelschicht liegen und miteinander intermolekular wechselwirken. In dieser Ebene können die Cholin-dipole als Ganzes auch rotieren, und zwar, den experimentellen Ergebnissen nach, mit beträchtlichem Freiheitsgrad, wenn auch selbst bei 50°C (9° oberhalb der Hauptumwandlung) immer noch nicht ganz ungehindert. Baut man jedoch mit Kalottenmodellen die polare Oberfläche von DPPC in der Gelphase und im flüssig-kristallinen Zustand, d. h., ordnet man die Phosphatidylcholindipole in einem hexagonalen Gitter an und packt sie entsprechend dem Flächenbedarf pro Molekül der jeweiligen Phase (173), so ist deutlich zu erkennen, daß die polaren Kopf-

gruppen in der Gelphase sehr dicht gepackt sind und sich sterisch stark behindern, und nur etwas weniger im flüssig-kristallinen Zustand (oberhalb ca. 41°C). Zur Klärung der Diskrepanz zwischen experimentellem Befund (relativ freie Beweglichkeit) und Aussage des Molekülmodells (recht bzw. sehr beschränkte Rotationsmöglichkeiten) muß man daher konformationelle Abweichungen eines Teils der Kopfgruppen sowie der Koppelung der Dipolrotation mit lateraler Diffusion von Molekülen und Defekten in Betracht ziehen. Defekte können z. B. durch Unregelmäßigkeiten bei der hexagonalen Anordnung der Phosphocholindipole entstehen oder dadurch, daß einige Kopfgruppen ihre Konformation so ändern, daß sie über die gemeinsame Rotationsebene hinausragen.

Cholesterol (vgl. Abb. 1, S. 8), ein Sterollipid, tritt oft in hoher Konzentration in biologischen Membranen auf. In Modellmembranen ⁽¹⁶⁷⁾ aus Phospholipiden (wie PC oder PE) und Cholesterol wird sein Ringgerüst im hydrophoben Kohlenwasserstoffbereich der Phospholipiddoppelschicht parallel zu den Fettsäureketten eingebaut, wodurch es deren kooperative Wechselwirkung unterbricht. Das starre Sterolsystem beschränkt die Beweglichkeit der benachbarten Acylketten-segmente und führt zu einem größeren Anteil an trans-Konformationen in den Fettsäuren. Dieser Ordnungseffekt wird nur vom Ringgerüst des Cholesterols ausgeübt, nicht aber von seiner Alkylkette. Im Bereich der polaren Köpfe hingegen verursacht Cholesterolzusatz zu Phospholipiden keine konformationellen Änderungen, da es zu keiner direkten Wech-

selwirkung mit der Kopfgruppe kommt. Diese Überlegungen ergeben daher ein Bild der polaren Region biologischer Membranen, in dem die zwitterionischen Dipole von Phosphocholin und Phosphoethanolamin parallel zur Oberfläche der Lipiddoppelschicht liegen, egal, ob Cholesterol in der Membran vorhanden ist oder nicht. Cholesterol-freie Doppelschichten sind so dicht gepackt, daß zwischen benachbarten polaren Köpfen elektrostatische Anziehung oder Wasserstoffbrücken existieren. Das wurde experimentell mit dem Nuklearen Overhauser Effekt (170 - 172) und durch Kristallstrukturen von DLPE-HOAC (161) und DMPC $\cdot$ 2H₂O (34) gezeigt. Durch diese intermolekularen Wechselwirkungen im Lipidensembel können die Torsionswinkel der polaren Kopfgruppen so verändert werden, daß ihre Konformation nicht mehr der energetisch günstigsten Anordnung entspricht, wie sie ein isoliertes Lipidmolekül annimmt. Die (polare) Hydroxylfunktion des Cholesterols ist verankert in der Nähe der Ester-carbonylgruppen der Phospholipide (172) bzw. bildet, nach neuerer Vorstellung (68), eine Wasserstoffbrückenbindung zum Sauerstoff am Kohlenstoffatom C₂ des Glycerinteils (vgl. Abb. 8, S. 55). Nach beiden Anschauungen reicht die OH-Gruppe also nicht bis in die polare Oberfläche der Lipiddoppelschicht, weder mit der Phosphatgruppe noch mit dem Cholinrest der Kopfgruppe erfolgt eine Wechselwirkung. Trotzdem verspüren die Cholindipole den Cholesterol-einbau zwischen die Fettsäureketten, und zwar indirekt: Durch Inkorporation von Cholesterol in die Membran wird der Abstand der polaren

Lipidköpfe voneinander vergrößert, Cholesterol wirkt als sogenanntes "Spacer - Molekül". Damit wird dem Wasser das Eindringen in die polare Membranoberfläche erleichtert und die intermolekulare elektrostatische Wechselwirkung aufgehoben. Der letzte Effekt wurde experimentell mit dem Overhauser Effekt bestätigt (170). "Verdünn" man also ein Phosphatidylcholin durch Zusatz von Cholesterol, so wird die elektrostatische Anziehung der Cholindipole eliminiert, die Kopfgruppenpackungsdichte (vgl. S. 236) im Vergleich zum reinen Phospholipid ist vermindert und die polaren Köpfe können, befreit vom Zwang der elektrostatischen Wechselwirkung, ihre energetisch günstigste Konformation einnehmen. Mit diesem Bild läßt sich die im Experiment gefundene Änderung der Quadrupolaufspaltung von im polaren Kopf deuterierten Phospholipiden interpretieren (167, 174). Da sich das lineare Polypeptid Gramicidin A ähnlich verhält wie Cholesterol, wenn es in eine Lipidmembran eingebaut wird, könnte dieser Effekt allgemein gelten für lipidfremde Moleküle, die bevorzugt in die Kohlenwasserstoffregion der Lipiddoppelschicht aufgenommen werden, z. B. also auch für langkettige Alkohole und Pheromone. Mit Röntgen- und Elektronenbeugung wurde das Phasenumwandlungsverhalten multilamellarer Vesikel aus 1,2-Dimyristoyl-phosphatidylcholin (DMPC) in Abhängigkeit von der Konzentration des Cholesterolgehaltes bestimmt (65, 68). Ist die Cholesterolkonzentration größer als 5 Molprozent, so tritt die Vorumwandlung bei der Temperatur T_V nicht mehr auf, ab etwa 20 % verschwindet

auch die kooperative Hauptumwandlung bei der Temperatur T_H . Die Phasenübergangstemperatur bleibt trotzdem (s. unten), unabhängig vom Cholesterolanteil, beim T_H -Wert für das reine DMPC und nur die Umwandlungsbreite nimmt mit steigender Konzentration an Cholesterol zu. Diese Befunde können wie folgt interpretiert werden: Die ersten cholesterolreichen Bezirke, die aus den Phospholipid/Cholesterol-Komplexen auskristallisieren, sind Domänen ⁽⁶⁸⁾ mit einer Stöchiometrie von einem Cholesterol zu zwei Phospholipid-Molekülen. Ein Phospholipid ist dabei über einen Sauerstoff am C_2 des Glycerinteils durch eine Wasserstoffbrücke mit der OH-Funktion des Sterols verbunden, während das zweite Lipid durch van-der-Waals-Wechselwirkung mit dem Komplex assoziiert ist. Diese cholesterolreichen Assoziate koexistieren mit Regionen von freiem Phospholipid, welche bei der Umwandlung der Gelpase in den flüssig-kristallinen Zustand sichtbar sind. Durch Cholesterol komplexiertes (H-Brücke) Phospholipid kann nicht an dem Phasenübergang teilnehmen, und das assoziierte Phospholipid trägt in einer nicht-kooperativen Umwandlung zur beobachteten Vergrößerung der Umwandlungsbreite bei.

Der Wegfall der Vorumwandlung kann dadurch beschrieben werden, daß durch den Einbau von kleinen Cholesterolkonzentrationen in die Phospholipidmembran der Neigungswinkel der Fettsäureketten des Phosphatidylcholins zur Ebene der Doppelschicht vermindert wird ⁽⁸⁴⁾, bis sie fast senkrecht zur polaren Oberfläche stehen. Bei ungefähr 20 Molprozent Choleste-

rolanteil verschwinden die Domänen an freiem Phospholipid und daher auch die Hauptumwandlung, die Grenze der Kooperation der DMPC-Moleküle ist erreicht. Erhöht man den Cholesterolanteil noch weiter, so tritt nur noch eine unspezifische, nicht-kooperative und breite Phasenumwandlung der dem 1:1-Komplex assoziierten Phospholipide auf. Bei einer Konzentration von 50 Molprozent bilden sich in der Doppelschicht hydratisierte Cholesterolkristalle. Wie das Phasendiagramm⁽¹²⁷⁾ des Systems Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC)/Cholesterol zeigt, sind die einzelnen Phasen in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Cholesterolgehalt sehr viel komplexer miteinander verbunden, als es der obige kurze Abriß ahnen läßt. Bemerkenswert hierbei ist, daß elektronenmikroskopische Aufnahmen von Domänen der Zwischenphase, also bei Temperaturen zwischen Vor- und Hauptumwandlung, eine Oberflächenstruktur zeigen, die durch zwei unterschiedliche Riffelmuster gekennzeichnet ist. Die charakteristischen Merkmale dieser Zwischenphase, welche zu der beobachteten Riffelung (oder Wellung) führen, sind gegeben durch Neigungswinkel der Fettsäureketten zur Oberflächennormalen, Amplitude und Periodizität der Riffelung sowie den Wassergehalt zwischen den Lipiddoppelschichten^(175, 84) (vgl. auch Kap. II.3.2., S. 74). Es ist daher anzunehmen, daß die zwei Oberflächenmuster auf einen geringfügig unterschiedlichen Wasseranteil bei der Hydratisierung der polaren Membranebene zurückzuführen sind, mit entsprechend verschiedener Wellungsamplitude und -periodizität. Geriffelte Domänen treten in der

Zwischenphase auch bereits bei reinen Phosphatidylcholinen wie DMPC und DPPC auf (176).

Verwendet man statt Cholesterol ein spinmarkiertes Cholesterinderivat (4',4'-Dimethylspiro[5 α -cholestan-3,2'-oxazolidin]-3'-yloxy, Abb. 36), so kann man sein temperaturabhängiges Phasenumwandlungsverhalten in Modellmembranen wegen des Sauerstoffradikals mit der Elektronenspinresonanz direkt verfolgen (67).

Es ergeben sich dabei bereits signifikante Unterschiede zum Verhalten von Cholesterol. Daher wäre in diesem Zusammenhang ohne Zweifel eine Untersuchung anderer, physiologisch bedeutsamer Steroide wie Östrogen oder Progesteron in künstlichen Membranen von Interesse.

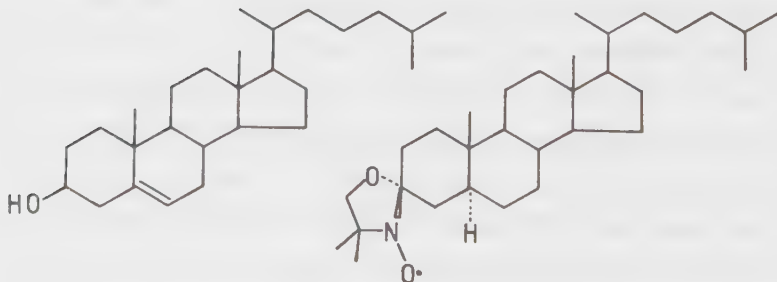


Abb. 36: Cholesterol (links) und Cholestan-Spinlabel
(s. Text)

Phosphatidylcholine können Wassermoleküle an drei verschiedenen Stellen binden, nämlich an der Trimethylammoniumgruppe, dem Phosphatsegment, sowie an den Carbonylfunktionen der Esterbindungen zu den Kohlenwasserstoffketten. Unterschiede im Hydratationsgrad können die Struktur der Doppelschicht beeinflussen (vgl. oben). Das Ausmaß der Hydratation der polaren Membranoberfläche wird bestimmt von der relativen Zugänglichkeit dieser drei möglichen Adsorptionsorte für das Wasser. Lipiddoppelschichten aus Phosphatidylcholinen (PC) sind stärker hydratisiert als solche aus Phosphatidylethanolaminen ⁽¹⁷⁷⁾, und PC/Cholesterol-Systeme wiederum in größerem Ausmaß als reine Phosphatidylcholine ⁽¹⁷⁸⁾. Das beschriebene Modell der Kopfgruppenkonformation und -assoziation erklärt diese Ergebnisse zufriedenstellend: Während in allen Fällen die Kopfgruppe fast parallel zur Oberfläche der Doppelschicht orientiert ist ⁽¹⁶⁴⁾, variiert die Stärke der intermolekularen elektrostatischen Anziehung der polaren Köpfe in Abhängigkeit vom Typ der Kopfgruppe und von der Konzentration eventuell vorhandener Fremdmoleküle (vgl. voranstehende Cholesterol-Diskussion).

Resultate aus Messungen des ³¹P/¹H-Nuklearen-Overhauser-Effektes (NOE) zeigen, daß die intermolekularen Wechselwirkungen zwischen den Kopfgruppen in PC/Cholesterol-Systemen schwächer sind als in reinen PC-Doppelschichten ⁽¹⁷⁰⁾.

Auch ist der Schluß vernünftig, daß PE-Kopfgruppen stärker miteinander elektrostatisch wechselwirken als PC-Köpfe, denn wegen ihrer geringeren sterischen Raumbeanspruchung

kann sich die $-\text{NH}_3^+$ -Gruppe der Phosphatidylethanolamine dem negativ geladenen Phosphatsauerstoff des benachbarten Lipidmoleküls besser annähern als die räumlich voluminösere $-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ -Gruppe der Phosphatidylcholine. Die Ammoniumgruppe bindet sich direkt über eine Wasserstoffbrücke an das Phosphat, wie aus der Kristallstruktur zu ersehen ist (161). ^{31}P - und ^2H -Daten zeigen, daß PE-Kopfgruppen weniger Bewegungsfreiheit aufweisen als PC-Dipole (166). Daher kann der Grad der Hydratation zur Stärke der Assoziation der Kopfgruppen in Beziehung gesetzt werden: In Modellmembranen mit nur schwacher elektrostatischer Anziehung der Kopfgruppen (z. B. PC) sind die geladenen Dipole für das Wasser des umgebenden Mediums gut zugänglich; sie sind in größerem Ausmaß hydratisiert als dies für intermolekular stark assoziierte Lipide (z. B. PE) zutrifft. Daß Phosphatidylethanolamin-Kopfgruppen miteinander stärker assoziieren als Phosphatidylcholin-Köpfe läßt sich auch strukturell qualitativ verdeutlichen: Die $\text{R}-\text{NH}_3^+$ -Ionen bilden mit ihren Protonen eine Wasserstoffbrückenbindung zum Phosphatsauerstoff, die stärker ist als die rein elektrostatische Wechselwirkung in Phosphatidylcholinen. Das Fehlen eines brückengebundenen Wasserstoffs erklärt die größere Flexibilität der Cholinkopfgruppe im Vergleich zum PE-Dipol. Die elektrostatische Anziehung für sich allein scheint ziemlich schwach zu sein, denn die Beweglichkeit der polaren Cholinkopfgruppierung ist mit der einer einfachen Propylfunktion vergleichbar (32). Die zusätzliche intermolekulare Wasserstoffbrücke

ist offensichtlich auch mit ein Grund für die durchwegs beträchtlich höher liegenden Phasenhauptumwandlungstemperaturen der gesättigten 1,2-Diacyl-phosphatidylethanolamine im Vergleich zu den entsprechenden Phosphatidylcholinen (vgl. Tab. 4, S. 30: DMPE - DMPC, DPPE - DPPC). In die gleiche Richtung weist die pH-Abhängigkeit des Phasenüberganges von Phosphatidylethanolaminen, denn bei hohem pH wird die Umwandlungstemperatur herabgesetzt ⁽⁵²⁾, da wegen der Deprotonierung der Ammoniumfunktion ihre Wechselwirkung mit dem Phosphatsauerstoff reduziert wird.

Auch energetische Berechnungen ⁽¹⁷⁹⁾ sagen eine wegen der H-Brücke erhöhte Umwandlungstemperatur für Phosphatidylethanolamine voraus. Schon kleine strukturelle Modifikationen wirken sich deutlich auf die Phasenumwandlungstemperatur aus. Sie fällt proportional zur Zahl der Methylsubstituenten am Stickstoff, wenn man die Wasserstoffatome der $-NH_3^+$ -Funktion im Dipalmitoylphosphatidylethanolamin sukzessive durch Methylgruppen ersetzt. Das Trimethylderivat, das Phosphatidylcholin, hat die niedrigste Hauptumwandlungstemperatur, und nur dieses zeigt auch eine Vorumwandlung ⁽⁷²⁾. Es hat also den Anschein, daß die intermolekulare Wasserstoffbrückenbindung zwischen Phosphatidylethanolaminkopfgruppen durch zunehmende Methylsubstitution geschwächt wird. Eine mögliche Erklärung für das Auftreten der Vorumwandlung in Phosphatidylcholinen soll folgende kleine geometrische Betrachtung geben:

In der Gelphase der Lipiddoppelschicht benötigt die Phos-

phatidylcholin-Kopfgruppe eine größere Querschnittsfläche als der Kopfgruppendifol des entsprechenden Phosphatidylethanolamins ⁽³⁴⁾. Das findet man auch in Strukturanalysen der beiden Lipidtypen ^(161, 180) im Kristall. Die Querschnittsfläche der beiden Fettsäureketten ⁽³⁴⁾ ist ungefähr genauso groß wie die Fläche, welche der Phosphatidylethanolaminkopf in der polaren Membranoberfläche belegt. Deswegen kann man in Lipiddoppelschichten von Phosphatidylethanolaminen in der Gelphase die polaren Köpfe in ihrer fast parallelen Orientierung ⁽¹⁶⁴⁾ zur Membranoberfläche genauso dicht packen, wie die senkrecht zur Oberfläche stehenden Kettenpaare der Fettsäuren im Membraninneren. Sowohl für den polaren Kopfgruppenbereich wie für den hydrophoben Kohlenwasserstoffbereich ergibt sich durch den gleichzeitigen bestmöglichen Kontakt beider Bauteilgruppen jeweils die maximale Wechselwirkung. Der analoge Fall für Phosphatidylcholine stellt sich wegen der größeren Querschnittsfläche der Cholin-kopfgruppe aber anders dar: Ordnet man die größeren PC-Köpfe in einer Ebene so an, daß ihre intermolekulare elektrostatische Anziehung maximal wird, dann wird die hydrophobe van-der-Waals-Anziehung der Fettsäureketten drastisch verringert, wenn sie wie in Phosphatidylethanolaminen in der all-trans-Konformation senkrecht zur polaren Oberfläche stehen. Erst wenn die Acylketten ihre wirksame Querschnittsfläche vergrößern, indem sie einen spitzen Winkel α zur Normalen auf die Oberfläche bilden ⁽¹⁸¹⁾, kann auch ihre van-der-Waals-Wechselwirkung wieder maximal werden. Die geschild-

derte Situation soll die Abb. 37 verdeutlichen.

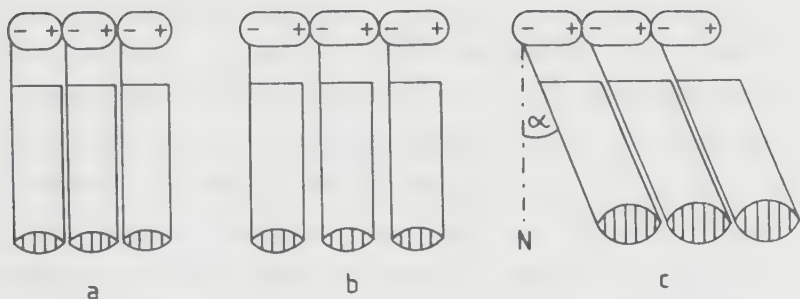


Abb. 37: Intermolekulare elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkung in der Gelphase von (a) Phosphatidylethanolaminen und (b, c) Phosphatidylcholinen (N: Normale auf die Membranoberfläche; α : Neigungswinkel der Fettsäureketten).

In der Abbildung stellen die kleineren Ovale die dipolaren Kopfgruppen von Phosphatidylethanolamin (PE, Abb. 37a) bzw. die größeren Ovale die von Phosphatidylcholin (PC, Abb. 37b, c) dar. Die Striche sollen die äußere Begrenzung des Diglyceridteils versinnbildlichen, der für beide Lipidtypen PE und PC als identisch angenommen wird. Abbildung 37a zeigt die Anordnung der PE-Moleküle, für welche sich größt-

mögliche elektrostatische Anziehung der Kopfgruppen sowie maximale Stabilisierung durch die anziehenden van-der-Waals-Dispersionskräfte im Gelzustand ergeben. Letztere entfallen bei analoger Anordnung von PC-Molekülen, denn der größeren Cholindipole wegen sind die Fettsäureketten benachbarter PC-Moleküle für eine hydrophobe Anziehung zu weit voneinander entfernt (Abb. 37b). Die Natur umgeht dieses Manko, indem die Acylketten einen Neigungswinkel α einnehmen zur Normalen N auf die polare Oberfläche, in der die Cholin-kopfgruppen liegen (Abb. 37c). Durch diese Neigung der Ketten wird das "potentielle Loch" in der Kohlenwasserstoffregion zwischen den PC-Molekülen aufgefüllt. Die Ketten stehen intermolekular in engem Kontakt und unterliegen der starken, aber nur kurzreichweitigen van-der-Waals-Anziehung wie bei der PE-Doppelschicht.

Eine solche Kettenneigung ist nicht notwendig bei den Phosphatidylethanolaminen, da sie eine kleinere polare Gruppe haben, und daher zeigen sie auch keine Vorumwandlung (83). Infolge dieser Neigung verkürzt sich die effektive Länge der Acylketten (das entspricht ihrer Projektion auf die Oberflächennormale) im Vergleich zu den senkrecht zur Oberfläche in der all-trans-Konformation angeordneten Fettsäureresten in PE-Doppelschichten. Der Neigungswinkel α in der Gelphase von Phosphatidylcholinen hängt von folgenden Faktoren ab:

- a) vom Wassergehalt, z. B. steigt α von 16° auf 30° , wenn die Wasserkonzentration einer Dipalmitoylphosphatidyl-

cholinprobe von 5 auf 25 Gewichtsprozent zunimmt (36,84);

- b) bei maximaler Hydratisierung (bei einem Überschuß an Wasser) von der Temperatur, und zwar nimmt der Neigungswinkel mit steigender Temperatur ab.

Bei der Temperatur der Vorumwandlung T_V vermindert sich der Knickwinkel α sprunghaft, wenn man die Gelphase eines Lecithins (syn.: Phosphatidylcholin) erwärmt. Nach Janiak et al. (84) hat er im Bereich der Zwischenphase, also zwischen Vorumwandlung bei T_V und Hauptumwandlung bei T_H , einen konstanten Wert, der kleiner ist als in der Gelphase. Nach Kothe (86) sind die Fettsäureketten in der Zwischenphase nahezu parallel zur Oberflächennormalen orientiert (vgl. Abb. 14, S. 83) und eine periodische Wellung der polaren Oberfläche führt zu einem kleinen Neigungswinkel α zwischen 0° und 17° für Dimyristoyllecithin (vgl. S. 82), der aber wieder geringer ist als in der Gelphase (konstant 23°). Beide Ergebnisse zeigen also ein Aufrichten der Fettsäureketten am Vorumwandlungspunkt.

Je kleiner aber der Knickwinkel der Acylketten wird, desto kleiner muß das "potentielle Loch" im Kontaktbereich der Kohlenwasserstoffketten sein, denn umso ähnlicher ist das in der Zwischenphase befindliche Lecithin der Gelphase des Phosphatidylethanolamins mit seinem Neigungswinkel von 0° (34) und seiner für beide Wechselwirkungskräfte optimalen Anordnung von Dipolen und Fettsäureresten. Warum nun vermindert sich der Neigungswinkel in PC-Doppelschichten beim Übergang von der Gelphase in die Zwischenphase? Aus dem

Vergleich der Strukturen der Gelphasen von Phosphatidylethanolaminen und -cholin (Abb. 37a,c) muß man den Schluß ziehen, daß der Knickwinkel eine Funktion des Platzbedarfs der polaren Gruppe relativ zu dem des Diglycerids ist. Die Querschnittsfläche, welche die Fettsäurekettenpaare in abgewinkeltem Zustand beanspruchen, ist größer als bei senkrechter Stellung zur Membranoberfläche. Das symbolisieren die schraffierten Ovale in der hydrophoben Membranmitte der Abb. 37 (S. 247). Durch die Neigung wird außerdem die effektive Länge der Acylketten verkürzt. Das Aufrichten der Fettsäuren bei der Temperatur T_V der Vorumwandlung sollte daher, argumentiert man in analoger Weise wie beim Vergleich der Gelphasen von Phosphatidylethanolamin und Phosphatidylcholin, mit einem kleineren Unterschied in der Zwischenphase im Platzbedarf zwischen der Cholingruppierung und dem Diglyceridteil im Verhältnis zur Gelphase erklärbar sein. Theoretisch wäre eine solche Angleichung der Querschnittsflächen denkbar sowohl durch eine Verkleinerung des Cholindipols wie auch durch eine Vergrößerung der Fläche, welche ein Fettsäurepaar benötigt. Für beide Möglichkeiten existieren experimentelle Befunde und Hinweise. So wird die Querschnittsfläche des Phosphatidylcholindipols in der Kristallstruktur eines Lysolecithin-Analogen zu $52.1 \text{ \AA}^2$ ermittelt (180). Für voll hydratisierte Doppelschichten von 1,2-Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) in der Gelphase (unterhalb der Vorumwandlung) findet man für diesen Wert $48.3 \text{ \AA}^2$ und in der fluid-kristallinen Phase, d. h., oberhalb der Hauptumwandlung,

57 Å² (173, 175). Die Vergrößerung der Fläche ist auf die mit steigender Temperatur wachsende laterale Expansion der polaren Membranoberfläche zurückzuführen. Sie ist verständlich, denn auch das gesamte spezifische Volumen einer wässrigen DPPC-Dispersion nimmt mit größer werdender Temperatur zu, gemäß einer Funktion, welche Vor- und Hauptumwandlung eindeutig erkennen läßt (182). Diese dilatometrisch gemessene Volumenzunahme beträgt bei der Temperatur T_H der Hauptumwandlung $3.6 \cdot 10^{-2} \text{ ml g}^{-1}$ und bei der Vorumwandlung (T_V) $0.3 \cdot 10^{-2} \text{ ml g}^{-1}$.

Daher überrascht eigentlich, daß in der Kristallstruktur von 1,2-Dimyristoylphosphatidylcholin-dihydrat (DMPC·2H₂O) für die Fläche pro PC-Dipol 38.9 Å² gefunden wird (34).

Die Analyse wurde bei 10° - 15°C durchgeführt, also im Bereich der Vorumwandlungstemperatur (s. S. 132). Ein Myristoylrest benötigt hiernach 19 Å². Die Differenz im Flächenbedarf zwischen PC-Dipol und Dimyristoylteil beträgt somit

$38.9 \text{ Å}^2 - 2(19 \text{ Å}^2) = 0.9 \text{ Å}^2$, und sie ist verantwortlich für den bei dieser Temperatur ermittelten Neigungswinkel von 12° der Myristoylketten gegen die Normale auf die polare Oberfläche (34). Dieser Winkel ist kleiner als in der

Gelphase von DMPC, wo er konstant 23° beträgt (s. S. 82). Zum Vergleich seien die Verhältnisse beim 1,2-Dilauroylphosphatidylethanolamin (DLPE) angeführt (161, 34):

Der PE-Dipol benötigt einen Platz von 38.6 Å², und ein Lauroylrest 19.3 Å². Der Querschnitt einer Lauroylkette ist wegen ihrer geringen Länge (C₁₂) etwas größer als für

eine Myristoylkette (C_{14}). Es besteht somit im DLPE keine Flächendifferenz zwischen polarem Kopf und Diglyceridteil, der Neigungswinkel der Fettsäuren beträgt 0° und es zeigt keine Vorumwandlung, d. h. die Gelphase geht bei Temperaturerhöhung bei der Temperatur T_H direkt in die flüssig-kristalline Phase über. Allgemein existiert deswegen bei Phosphatidylethanolaminen keine Zwischenphase. Aber zurück zum überraschend kleinen Flächenbedarf des PC-Dipols in der Zwischenphase, der übrigens dem oben genannten Wert für den PE-Kopf sehr nahe kommt. Er ist mit $38.9 \text{ \AA}^2$ sogar kleiner als in der Gelphase ($48.3 \text{ \AA}^2$) und steht somit im Widerspruch zur dilatometrisch gemessenen Volumenexpansion mit zunehmender Temperatur. Daneben ist diese Aussage unvereinbar damit, daß die fast parallele Orientierung ⁽³⁶⁾ der Phosphatidylkopfggruppe zur polaren Membranoberfläche sowie ihre Konformation ^(43b), abgesehen von geringfügigen Torsionswinkelverdrehungen ^(34, 36), in allen drei Lecithinphasen praktisch unverändert vorliegt. Diese Frage klärt wieder die Strukturbestimmung von DMPC $\cdot 2H_2O$ ⁽³⁴⁾: Durch eine alternierende Vertikalversetzung um $2.5 \text{ \AA}$ (oder zwei CH_2 -Einheiten) wird jedes zweite Molekül aus der Ebene der polaren PC-Kopfgruppen nach oben versetzt. Das vermindert zwar nicht die reale Querschnittsfläche pro PC-Dipol, wohl aber seine effektive (das entspricht der Projektion der vertikal versetzten Kopfgruppen auf die ursprüngliche polare Oberfläche der Gelphase, vgl. Abb. 38a). Dadurch wird die durch die Packung der PC-Dipole in der gleichen Ebene verursachte

sterische Behinderung in der Gelphase gemildert. Diese Anordnung der Phosphatidylcholköpfe in zwei parallelen Ebenen, unter Beibehaltung des für die optimale elektrostatische Anziehung sowie für die durch Wassermoleküle vermittelten Wasserstoffbrücken geeigneten Abstandes der Dipole, vermag daher den in der Zwischenphase reduzierten Neigungswinkel der Fettsäureketten im Vergleich zur Gelphase zu erklären.

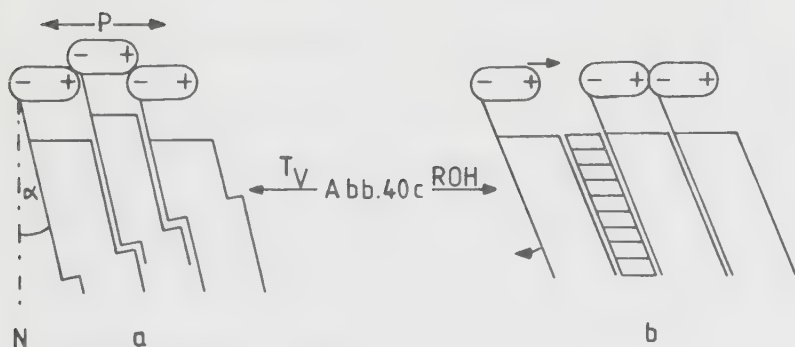


Abb. 38: (a) DMPC·2H₂O bei 10 - 15°C;

(b) n-Alkanol (ROH, schraffiert) in DMPC-Dispersion in der Gelphase.

Die Dicke einer wässrigen Lecithindispersion, gemessen von Oberfläche zu Oberfläche derselben Lamelle, ist in der Zwischenphase maximal ⁽⁸⁴⁾ (s. S. 82), obwohl durch die bei der Temperatur der Vorumwandlung stattfindende kooperative Kinkblockbildung (s. S. 71, Abb. 12b) jede Fettsäurekette um $1.25 \text{ \AA}$ (s. S. 66, Abb. 11d) verkürzt wird. Die Bildung des Kinkblocks zeigt auch die Abbildung 38a. Die dadurch bewirkte Verringerung der Dicke der Doppelschicht wird offensichtlich durch die gleichzeitig stattfindende Vertikalversetzung ganzer Lipidmoleküle überkompensiert. Die Anordnung der Lecithinmoleküle der Abbildung 38a ist vermutlich verwandt mit der Struktur der Zwischenphase, wie sie in Abbildung 14 (S. 83) für den Temperaturbereich zwischen Vor- (T_V) und Hauptumwandlung (T_H) gezeigt ist, einmal abgesehen von der größeren Periodizität der Wellung (P in Abb. 38a) in der letztgenannten Abbildung. Unterschiedliche Periodizitäten P haben verschiedene Neigungswinkel der Fettsäureketten zur Folge. Neben der Periodizität P der Wellung ist noch der interlamellare Abstand benachbarter Lamellen, gegeben durch die Amplitude A , ein für die Einheitszelle der Zwischenphase charakteristischer Parameter. Die Amplitude A der Wellung hat bei maximalem Hydratisierungsgrad, wie die Dicke der Lecithindoppelschicht, in der Zwischenphase ihren größten Wert ⁽⁸⁴⁾. Amplitude A und Periodizität P sind abhängig vom Wassergehalt der Lecithindispersion und von der Temperatur, bei maximaler Hydratisierung nur mehr von der Temperatur.

Das Aufrichten der Fettsäureketten bei der Vorumwandlung relativ zu ihrer Neigung im Gelzustand kann durch eine Angleichung der Platzverhältnisse von PC-Dipol und Diglyceridteil plausibel gemacht werden.

Die Angleichung kann auch durch Vergrößerung der effektiven Querschnittsfläche der Fettsäureketten erreicht werden, wie es in der Abbildung 38a durch die kooperative Bildung des Kinkblockes in der Zwischenphase angedeutet ist (vergleiche dazu S. 66, Abb. 11b und d bzw. e). Dadurch werden Kettenteile, unter Beibehaltung der Längsrichtung und damit des Neigungswinkels, seitlich versetzt, sodaß sich in der Projektion entlang der Längsachse in der Zwischenphase ein vergrößerter Flächenbedarf für eine Alkylkette mit Kink ergibt, verglichen mit der all-trans-Konformation der Gelphase. Die zweite Möglichkeit zur Vergrößerung des Fettsäurekettenflächenbedarfs ist mit der bei der Temperatur T_V der Vorumwandlung einsetzenden Rotation der Acylketten um ihre Längsachse gegeben. In der Gelphase ist diese Kettenrotation eingefroren (95).

Das Verhältnis der Flächen der polaren Kopfgruppe zum apolaren Kohlenwasserstoffteil einer Lecithinmembran wird durch den Einbau einer lipidfremden Substanz in die Doppelschicht anders als im reinen Lecithin. Dadurch kann das Phasenumwandlungsverhalten extern modifiziert werden, denn die Inkorporation der Fremdmoleküle in die Lipidstruktur beeinflusst die kooperativen Phasenübergangsmechanismen der Membran. Im folgenden soll mit Hilfe des entwickelten moleku-

laren Bildes der Vorumwandlung der Lecithine qualitativ die Frage geklärt werden, wie sich langkettige aliphatische Alkohole, Pheromone und pheromonanalogue Verbindungen auf Vor- und Hauptumwandlung von Modellmembranen auswirken. Abbildung 38b (S. 253) zeigt exemplarisch den orientierten und fixierten Einbau eines Alkanolmoleküls: Die Alkylkette liegt parallel zu den in der Gelphase geneigten Fettsäureresten der Lecithinmoleküle. Die Hydroxylfunktion ist über eine Wasserstoffbrücke an einen Carbonylsauerstoff gebunden. Der hypothetische Zustand der Abbildung 38b bleibt so nicht erhalten, denn (wie die Pfeile andeuten) die Phosphatidylcholingruppen füllen die durch den Alkanoleinbau entstandene Lücke in der elektrostatischen Anziehung der Kopfgruppen wieder auf, wodurch aber der Neigungswinkel der Fettsäureketten in der Umgebung des Alkohols reduziert wird und daher kleiner ist als in der Gelphase eines reinen Lecithins. Einem Phosphatidylcholin zugesetzte langkettige Alkohole füllen also, proportional zu ihrer Konzentration und entsprechend ihrer Struktur, die im Gelzustand der reinen Lecithindispersion vorhandenen "potentiellen Löcher" in der Region der Fettsäuren auf. Gemäß den entwickelten Anschauungen sollte daher von vornherein jeder in ein Lecithin inkorporierte Alkohol die Phasenumwandlungstemperaturen alkanoldotierter Phosphatidylcholins erhöhen im Vergleich zum reinen Lecithin. Da aber nicht alle PC-Alkohol-Mischungen T_H erhöhen, müssen drei Fälle für die hier diskutierten n-Alkohole unterschieden werden, die sich aus der un-

terschiedlichen Länge der Alkylketten der Alkohole ergeben (vgl. Abb. 38b, S. 253).

- a) Der eingebaute Alkohol ist exakt so lang wie die ihn umgebenden Fettsäurereste:

Ein Alkanol dieser Länge verhält sich sozusagen wie ein halbes Lipidmolekül ohne polaren Kopf. Der gesamte Alkylteil des Alkohols steht in van-der-Waalsscher Wechselwirkung mit den Ketten der benachbarten Fettsäuren und beeinträchtigt die kooperativen Konformationsänderungen der Lipidacylketten nicht, im Gegensatz etwa zum starren Ringgerüst des Cholesterols oder auch zur Doppelbindung von Alkenolen. Durch den Einbau in die Lecithinmembran, der durch Kodispersion der beiden Komponenten geschieht, wird die Querschnittsfläche des Kohlenwasserstoffteils im Vergleich zum Flächenbedarf der Phosphatidylcholindipole vergrößert. Als Folge davon ergibt sich für die Gelphase der alkanoldotierten Lipiddispersion ein kleinerer Neigungswinkel der Fettsäureketten zur polaren Oberfläche als für das reine Lecithin. Insofern ähnelt die Gelphase einer Lecithin-Alkohol-Mischung daher der Zwischenphase des undotierten Phospholipids, die ebenfalls durch einen im Vergleich zur Gelphase reduzierten Neigungswinkel charakterisiert ist. Alkoholzusatz bewirkt also die gleichen konformationellen Änderungen wie die thermische Vorumwandlung in reinem Phosphatidylcholin. Es müßte eine bestimmte Alkanolkonzentration existieren, wodurch der Neigungswinkel der Fettsäuren auf 0° aufgerichtet wird. Bei dieser Konzentration an Alkohol, hier die kritische genannt,

verschwindet die Vorumwandlung der Phosphatidylcholine. Beim Einbau eines Alkanolmoleküls, dessen Länge genau der der Lecithinfettsäuren entspricht, sollte man also eine proportional zur Alkoholkonzentration erhöhte Hauptumwandlungstemperatur sowie eine (kleine) kritische Konzentration erwarten. Beide Werte müßten für das untersuchte Lecithin/Alkanol-Paar typisch sein.

b) Der eingebaute Alkohol ist kürzer als die ihn umgebenden Fettsäurereste:

In diesem Fall entsteht in der hydrophoben Membranmitte, dort, wo die obere an die untere Hälfte der Doppelschicht grenzt, eine Leerstelle, die umso länger ist je kürzer die Alkylkette des inkorporierten Alkanols ist. Die Leerstelle liegt in derselben Doppelschichthälfte wie der Alkohol, durch dessen Einbau sie hervorgerufen wird. Leerstellen unterbrechen den Kontakt zwischen Acyl- und Alkylketten, wodurch die Effektivität der kooperativen Phasenumwandlungsmechanismen vermindert wird im Vergleich zur Situation a. Die kritische Konzentration von Alkanolen, die kürzer sind als die Fettsäureketten der Lecithine, in die sie inkorporiert sind, sollte daher größer sein als für gleichlange Komponenten (Fall a). Die Bildung von Leerstellen ist verbunden mit einer Zunahme der Entropie (30). Daher wird auch der Entropieunterschied ΔS für den Übergang der Zwischenphase in den fluid-kristallinen Zustand bei der Temperatur T_H der Hauptumwandlung mit kürzer werdender Kettenlänge der in die Lecithinmembran eingebauten Alkohole zunehmen, pro-

portional zur Größe der durch den Alkohol erzeugten Leerstelle. Die Übergangstemperaturen T der Phasen sind durch $T = \frac{\Delta H}{\Delta S}$ gegeben (183) (vgl. auch Gl. (6), S. 225), wobei ΔH die Enthalpieänderung der betreffenden Phasenumwandlung bedeutet. Man sollte deshalb erwarten, daß Alkohole, die kürzer sind als die Fettsäureketten der Lecithine, in die sie integriert sind, bei gleicher Konzentration erniedrigte Hauptphasenumwandlungstemperaturen hervorrufen im Vergleich zum Alkanol, das genau so lang ist wie die Lecithinacylketten (Fall a). Diese durch die "zu kurze Länge" der Alkohole bedingte Herabsetzung von T_H überlagert sich der durch jeden Alkohol (gleich welcher Länge) hervorgerufenen Erhöhung, die auf Grund des vorher dargelegten Füllmodells von Alkoholen in Lecithinen (s. S. 256) angenommen werden muß. Für in Lecithine inkorporierte Alkohole, die kürzer sind als die Fettsäuren der Phosphatidylcholine, sollten sich daher drei Gruppen ergeben, je nach Größe der beim Alkoholeinbau entstehenden Leerstelle bzw. der Kettenlänge des Alkohols, und zwar sowohl eine höhere, ungefähr gleiche, sowie auch niedrigere Hauptumwandlungstemperatur im Vergleich zu der des puren Lecithins. Außerdem sollte für abnehmende Alkoholkettenlänge die kritische Alkoholkonzentration zunehmen, bei der die Vorumwandlung entfällt, für alle drei Gruppen aber größer sein als im Fall a), da die hydrophobe van-der-Waals-Anziehung infolge der Leerstellen nicht mehr entlang der gesamten Acylkette besteht wie dort. Leerstellen vermindern den Ordnungsgrad der angren-

zenden Fettsäuresegmente. Bei den hier in b) diskutierten kurzen Alkoholen erstrecken sich die Leerstellen exakt von der Membranmitte der Lecithindoppelschicht, wo die Methylenen der Fettsäuren gegenüberliegender Phospholipidmoleküle aufeinander treffen, in Richtung auf die polare Membranoberfläche bis zum Methylenende des inkorporierten Alkohols (Abb. 39a, S. 261). Somit ergibt sich für eine Lecithin-Alkohol-Mischung, in der die Alkylkette des Alkohols kürzer ist als die Fettsäuren des Lecithins, ein im Prinzip ganz ähnliches Ordnungsprofil wie für ein reines Lecithin, in dem der Ordnungsgrad beider Palmitoylreste im Dipalmitoyllecithin von ihrem Carboxylanfang bis zum zehnten Methylensegment konstant und hoch ist, danach aber bis zu ihrem Methylenende kontinuierlich abnimmt (184). Zusatz eines Alkohols der "optimalen" Länge (Fall a) verändert das Fettsäure-Ordnungsprofil nicht (s. Abb. 38b, S. 253), während die hier betrachteten kürzeren Alkohole infolge der auftretenden Leerstellen eine Abnahme der Ordnung von C_{11} bis zum Methylenende der Fettsäuren hervorrufen. Die Abbildung 39a versucht die geschilderte Situation graphisch zu verdeutlichen, wobei die gewellt gezeichneten Fettsäureteile eine gegenüber dem reinen Lecithin verminderte Ordnung bedeuten.

c) Der eingebaute Alkohol ist länger als die ihn umgebenden Fettsäurereste:

Dieser Fall ist in Abbildung 39b dargestellt. Wird der Alkohol in die obere Hälfte der Doppelschicht eingebaut, so entsteht die dadurch verursachte Leerstelle in der unteren

Hälfte, und umgekehrt. Es wird angenommen, daß das Alkanol auch hier, ebenso wie in a) und b), mit seiner Hydroxylgruppe eine Wasserstoffbrückenbindung zum Carbonylsauerstoff eines Acylrestes bildet und damit vertikal fixiert ist.

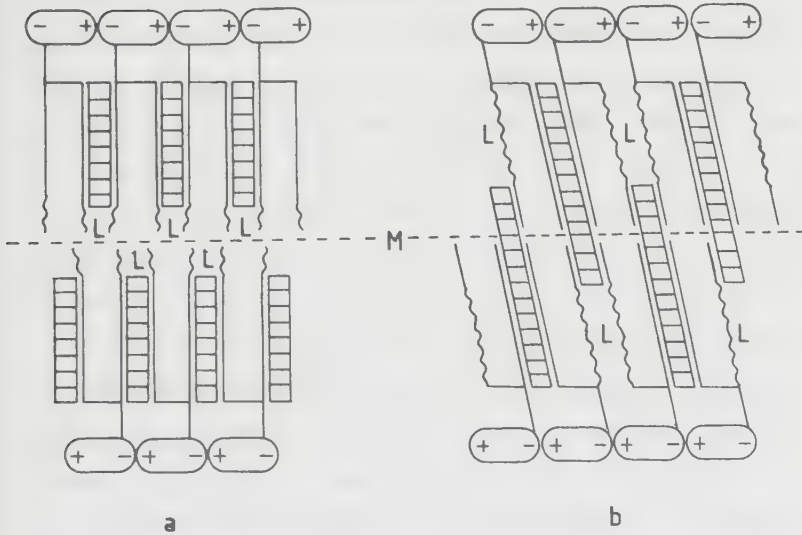


Abb. 39: n-Alkanol in Lecithindispersion; Alkanol
a) kürzer und b) länger
als Fettsäureketten des Lecithins
(M: Membranmitte; L: Leerstelle).

Während der "zu lange" Alkohol bei seinem Einbau die potentielle Lücke der Lecithindoppelschicht auffüllt und damit die Temperatur der Hauptumwandlung erhöht, entsteht gleichzeitig eine bis zur gegenüberliegenden polaren Oberfläche reichende Leerstelle, wodurch diese Temperatur erniedrigt wird, sodaß sich beide Effekte kompensieren, d. h., die Hauptumwandlungstemperatur im Vergleich zum reinen Lecithin kaum verändert sein sollte. Im Unterschied zum Fall b (Abb. 39a) wird aber jetzt (Abb. 39b) der Ordnungsgrad der Fettsäureketten bereits vom Carbonylanfang der Acylketten in Richtung Membranmitte reduziert, in einem Bereich also, der für die Fälle kürzerer und gleicher Länge von Alkohol und Fettsäuren eine konstante und hohe Ordnung aufweist. Insgesamt ergibt sich für eine Lecithindoppelschicht, die mit einem Alkohol dotiert ist, dessen Kettenlänge größer ist als die Länge der Fettsäuren des Lecithins, ein abwechselnd hoher und niedriger Ordnungsgrad für die beiden Acylketten desselben Lecithinmoleküls (Abb. 39b). Im Bild des Neigungswinkels der Fettsäureketten heißt dies, daß durch Einbau "zu langer" Alkohole zwar die Neigung eines Fettsäurerestes vermindert wird, der zweite Acylrest diesen Effekt jedoch nicht über die Leerstelle hinweg an die benachbarten Fettsäuren weitergeben kann. Somit sollte man vermuten, daß es durch keinen dieser Alkohole möglich ist, alle Lecithinfettsäuren bis zur Senkrechten auf die Membranoberfläche aufzurichten, was gleichbedeutend damit ist, daß in allen derartigen Lecithin-Alkohol-Membranen die Vorumwandlung vorhanden

sein müßte, und zwar unabhängig von der Alkanolkonzentration. Proportional zur Konzentration der hier betrachteten "zu langen" Alkohole hingegen ist die Zahl der durch ihren Einbau in die Doppelschicht verursachten Leerstellen. Durch Leerstellen separierte Fettsäuresegmente liefern keinen Beitrag zur Stabilisierung der Kohlenwasserstoffregion der Lecithindoppelschicht durch van-der-Waals-Anziehung (Abb. 39b). Deshalb muß man annehmen, daß hohe Konzentrationen solcher Alkohole den hydrophoben Zusammenhalt der Mischmembran soweit reduzieren bis die lamellare Struktur der Doppelschicht nicht mehr aufrecht erhalten werden kann und ein Lecithin-Alkohol-Gemisch aus der wässrigen Dispersion ausflockt.

Das hier entwickelte einfache Modell der Insertion von 1-Alkanolen in Lecithindoppelschichten beruht auf einem Strukturvergleich der in Phosphatidylethanolaminen und Phosphatidylcholinen unterschiedlichen Phasenzustände sowie der Kettenlängendifferenz zwischen Lecithinfettsäuren und Alkohol. Es erklärt die fluoreszenzspektrometrisch erhaltenen experimentellen Ergebnisse qualitativ richtig im Hinblick auf Erhöhung bzw. Erniedrigung der Phasenumwandlungstemperatur durch den Alkoholeinbau im Vergleich zum reinen Lecithin, wie die Tabelle 13a (S. 210/1) und die Abbildung 33 (S. 218) für Dimyristoyllecithin (DML) bzw. die Tabelle 13c (S. 214/5) und die Abbildung 34 (S. 219) für Dipalmitoyllecithin (DPL) zeigen. Außerdem ergibt sich ein plausibler Zusammenhang zwischen Kettenlänge und den

experimentell bestimmten Konzentrationen der Alkanole, welche die für Lecithine typische Vorumwandlung aufheben (hier "kritische Konzentration" genannt). Das ist aus Tabelle 11 (S. 184) und Abbildung 23 (S. 187) für DML bzw. Abbildung 24 (S. 188) für DPL ersichtlich.

Zwei wichtige Faktoren sind in den bisher dargelegten Vorstellungen nicht berücksichtigt. Das ist zum einen die experimentell gesicherte Tatsache, daß die beiden Fettsäurereste eines Lecithinmoleküls nicht äquivalent sind (184). So reicht die sn1-Kette in DML um $3.7 \text{ \AA}$ (34) und in DPL um $1.8 \text{ \AA}$ (36) weiter ins hydrophobe Membraninnere als die sn2-Kette. Zum anderen kann die alkoholische OH-Funktion der Alkanole wahrscheinlich nicht nur in einer einzigen, vertikal fixierten, Stellung eine Wasserstoffbrücke zum Carbonylsauerstoff der Lecithinacylketten bilden. Bezieht man diese zwei Faktoren in die Überlegungen des hier angeführten einfachen Modells mit ein, dann ist eine präzise Analyse der Eintauchtiefe der Alkohole in die Fettsäurereste der Lecithine notwendig. Dies soll im folgenden versucht werden.

Die Abbildung 40 (S. 265) zeigt einen kleinen Ausschnitt der DML-Doppelschicht mit einem inkorporierten Decanolmolekül. Die herrschende Temperatur soll der Gelphase entsprechen, sodaß die Fettsäuren in der all-trans-Anordnung ihre energetisch stabilste Konformation einnehmen, wobei einzelne Kinken als Punktdefekte der Struktur auftreten können.

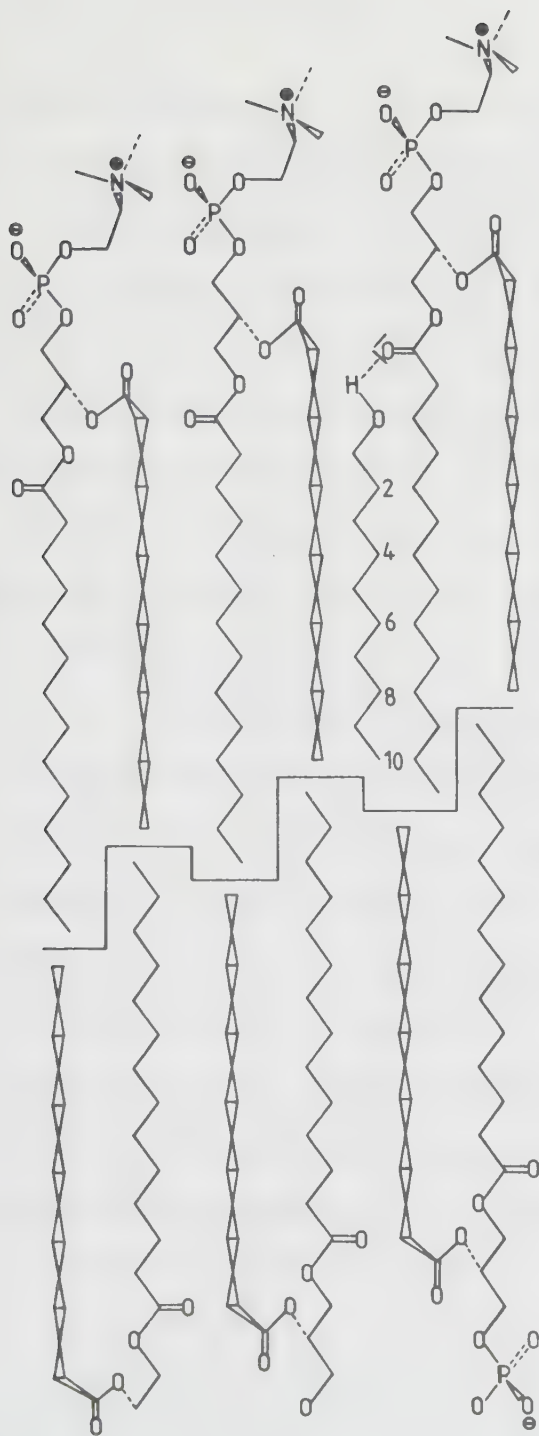


Abb. 40:
Decanol in DML
(GELPHASE)

Die Überlegung gilt auch noch für die Kinkblockphase, in der Kinken Strukturelemente sind, nicht mehr aber für den Gaucheblockzustand, also für eine Temperatur größer als die Hauptumwandlungstemperatur. Ferner sind in Abbildung 40 zwei wichtige Strukturaspekte enthalten, nämlich die In-äquivalenz der beiden Myristoylreste in einem DML-Molekül sowie die Versetzung zweier benachbarter Lecithine um $2.5 \text{ \AA}$, die Länge zweier CH_2 -Einheiten. Daß die sn1-Kette in DML, also der am Sauerstoff des Glycerin- C_1 -atoms sitzende Acylrest, um $3.7 \text{ \AA}$ oder drei CH_2 -Einheiten weiter ins hydrophobe Membraninnere ragt als die sn2-Kette, kommt von der speziellen Anordnung der sn2-Kette, die erst ab ihrem dritten Kohlenstoffatom parallel zur sn1-Kette verläuft. Beide Gesichtspunkte sind experimentell belegt: Sie treten so in der Röntgenstruktur des DML-Dihydrats ⁽³⁴⁾ auf, und man nimmt an, daß sie auch in der weniger geordneten Struktur der wässrigen Dispersion erhalten bleiben. Der Einbau eines langkettigen Alkoholmoleküls wie z. B. Decanol in die DML-Matrix bewirkt nun zweierlei: einmal wird im Membraninneren die hydrophobe Wechselwirkung der Fettsäureketten zweier benachbarter DML-Moleküle ersetzt durch ebenfalls hydrophobe Wechselwirkungen dieser beiden Fettsäuren mit dem Alkylrest des Alkohols, und zum anderen werden zwei Lecithineinheiten um die Breite des eingebauten Alkohols auseinandergedrängt. Das äußert sich in einer vergrößerten Entfernung der negativen Ladung am Phosphatsauerstoff des einen DML-Moleküls von der positiven Ladung am Stickstoff

seines Nachbarmoleküls.

Die anziehende van-der-Waals-Wechselwirkung wird also in einer alkoholdotierten DML-Membran je nach Eindringtiefe des Alkohols in den hydrophoben Teil der Doppelschicht modifiziert, während die Ion-Ion-Attraktion in der polaren Oberfläche der Lecithindoppelschicht vermutlich eine Schwächung erfährt, obwohl sie auch in der alkoholfreien Dispersion keine direkte Wechselwirkung des positiven Stickstoffs mit dem negativen Sauerstoff darstellt, sondern über ein Hydratwassermolekül vermittelt wird ⁽³⁴⁾ (in Abb. 40 nicht dargestellt). Der Einbau eines Alkanolmoleküls in die Lipidmatrix entspricht dem Übertritt des Alkohols aus der das Lecithin umgebenden wässrigen Phase in die DML-Doppelschicht. Dabei sind zwei Faktoren zu diskutieren:

Die anziehende hydrophobe Wechselwirkung wird maximal, wenn möglichst alle Methylengruppen der Alkylkette des Alkohols den Fettsäureketten der Lecithine direkt benachbart sind. Außerdem aber, und das bestimmt ebenso wie die Länge des Alkohols die effektive Eindringtiefe, benötigt die polare Hydroxylfunktion des Alkohols zum Aufbau einer bindenden Dipol-Dipol-Wechselwirkung einen ebenfalls polaren Partner im Lecithin.

Im Prinzip existieren im polaren Oberflächenbereich der polymeren Lecithinmembran drei solcher "Ankerplätze" für die alkoholische OH-Gruppe, und zwar könnte sie sich, erstens, unter Verdrängung eines Wassermoleküls in die ionische Bindung zwischen die Kopfgruppen zweier Lecithin-

moleküle einschieben, wodurch sich eine bindende Beziehung zwischen dem positiven Stickstoff des linken DML-Moleküls und einem freien Elektronenpaar vom Sauerstoff des Alkohols sowie eine Wasserstoffbrücke vom H-Atom der Alkoholfunktion zum negativen Sauerstoff des rechten DML-Moleküls ergäbe. Bei einer solchen Anordnung ist die Alkoholkette aber so weit aus dem hydrophoben Membranteil herausgezogen, daß für die ersten vier bis fünf Methylengruppen des Alkohols keine van-der-Waals-Anziehung mehr möglich ist; daher erscheint diese Einbauart unwahrscheinlich.

Zweitens könnte sich der Hydroxylwasserstoff an eines der drei Sauerstoffatome im Glycerinteil des Lecithins anlagern; eine Betrachtung des Kalottenmodells für diesen Fall legt jedoch nahe, daß dies unter Beibehaltung der all-trans-Konformation sterisch nicht machbar ist.

So verbleibt schließlich als letzte und wahrscheinliche Möglichkeit die Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zum positivierten Carbonylsauerstoff der sn1-Kette, wie es in Abbildung 40 (S. 265) dargestellt ist. Eine analoge Brücke zum Sauerstoff der Carbonylgruppe der sn2-Kette kann außer acht gelassen werden, da infolge der besonderen Konformation der sn2-Kette mit dem "Knick" am C₂ des Myristoylrestes keine genügende Annäherung des alkoholischen Wasserstoffs an den Sauerstoff der Carbonylgruppe durchführbar ist.

Nun ist in Abbildung 40 (S. 265) allerdings nur eine von drei möglichen Positionen gezeigt, die tiefste nämlich, die ein Decanolmolekül zwischen zwei DML-Einheiten unter Aus-

bildung einer Wasserstoffbrücke und gleichzeitiger Optimierung der anziehenden hydrophoben Wechselwirkung einnehmen kann. Hierbei liegt das C₁-Atom des Decanols auf der Höhe des C₄-Atoms der sn1-Kette des rechten DML-Moleküls, und der Alkohol erstreckt sich genauso weit ins Innere der Doppelschicht wie die (kürzere) sn2-Kette des linken DML-Moleküls.

Die gleichen Verhältnisse bleiben bestehen, wenn das Decanolmolekül zwischen den beiden Fettsäureresten um eine beziehungsweise zwei CH₂-Einheiten nach oben rückt, wodurch das C₁-Atom des Alkohols die Ebene des C₃- beziehungsweise C₂-Atoms erreicht. Abgesehen davon, daß sich die freien Elektronenpaare der Sauerstoffatome der alkoholischen OH-Gruppe und der Carbonylfunktion der sn1-Lecithinfettsäure in der obersten Stellung (C₂-Ebene) stärker abstoßen sollten als in der C₃- beziehungsweise C₄-Position, ist die Möglichkeit zur Wasserstoffbrückenbindung und maximalen van-der-Waals-Anziehung der CH₂-Gruppen ebenso gegeben in der C₃- oder C₂-Stellung wie auf der C₄-Ebene. Es wird lediglich die Eindringtiefe des Decanols in die Membran um die Länge einer beziehungsweise zweier Methylengruppen reduziert, was bedeutet, daß jetzt in der Membranmitte ein Loch von der Größe einer beziehungsweise zweier CH₂-Einheiten entstanden ist, eine Leerstelle. Decanol in DML hat also unter diesen Bedingungen die gleiche effektive Reichweite wie die benachbarte sn2-Kette, wenn sein C₁-Atom auf die Höhe des C₄-Atoms der sn1-Kette zu liegen kommt, be-

ziehungsweise eine um eine ($sn2 - 1$) oder zwei ($sn2 - 2$) CH_2 -Gruppen verkürzte Länge, falls C_1 (10-OH) um eine oder zwei Positionen nach oben rückt (Abb. 40, S. 265). Dieser Vergleich der Kettenlänge des Alkylrestes in Relation zur benachbarten $sn1$ - beziehungsweise $sn2$ -Fettsäure ist für alle diskutierten Eintauchtiefen und für alle untersuchten Alkohole in Tabelle 14 durchgeführt. Da von den beiden Fettsäureresten, welche den Alkohol einschließen, die $sn1$ -Kette um eine Methylengruppe weiter reicht als die $sn2$ -Kette, gilt z. B. $sn2+1 = sn1$.

C_1 auf (R-OH)	$C_4(sn1)$	$C_3(sn1)$	$C_2(sn1)$
8-OH	$sn2 - 2$	$sn2 - 3$	$sn2 - 4$
9-OH	$sn2 - 1$	$sn2 - 2$	$sn2 - 3$
10-OH	$sn2$	$sn2 - 1$	$sn2 - 2$
11-OH	$sn2 + 1$	$sn2$	$sn2 - 1$
12-OH	$sn1 (K)$	$sn1$	$sn2$
13-OH	$sn1 + 1 (K)$	$sn1 (K)$	$sn1$
14-OH	$sn1 + 2 (K)$	$sn1 + 1 (K)$	$sn1 (K)$
15-OH	$sn1 + 3 (K)$	$sn1 + 2 (K)$	$sn1 + 1 (K)$
16-OH	$sn1 + 4 (K)$	$sn1 + 3 (K)$	$sn1 + 2 (K)$

Tab. 14: Eindringtiefen der Alkanole Octanol
bis Hexadecanol in DML.
(Legende s. S. 271).

C_1 : C_1 -Atom der Alkanole

$C_{2,3,4}$: C-Atome des sn1-Myristoylrestes

sn1(2) : Myristoylrest am $C_1(C_2)$ des Glycerin-
teils von DML

K : 2g1-Kinke (im Alkohol).

Das eingeklammerte K bedeutet, daß die Alkylkette des Alkohols eine 2g1-Kinke enthalten soll; dadurch wird ihre Länge im Vergleich zur all-trans-Anordnung um eine CH_2 -Einheit vermindert (vgl. Abb. 11d, S. 66). Die gestreckte Form bleibt im wesentlichen erhalten und es ergibt sich nur eine geringfügige seitliche Versetzung der beiden durch die Kinke separierten parallelen Alkylteile. Die Angaben der Tabelle 14 können nun folgendermaßen interpretiert werden: Baut man in eine DML-Dispersion Octanol oder Nonanol ein, so werden in jedem Fall, ganz gleich, an welcher Stelle sich die Wasserstoffbrückenbindung ausbildet, in der Membranmitte, also dort, wo die Fettsäureketten der oberen mit denen der unteren Doppelschichthälfte zusammentreffen, Leerstellen im Gitter erzeugt.

Das scheint die Bedingung für eine Erniedrigung der Phasenhauptumwandlungstemperatur zu sein (vgl. Abb. 35, S. 221 und Tab. 13a, S. 210/1). Auch die kritische Alkoholkonzentration der Vorumwandlung (vgl. Abb. 23, S. 187) zeigt, daß Octanol und Nonanol derselben Gruppe zuzuordnen sind. Beim Decanol wird in der Position C_4 (sn1) zum ersten Mal die volle Länge der sn2-Lecithinkette erreicht, offensicht-

lich die Voraussetzung zur Erhöhung der Phasenübergangstemperatur, wie sie auch mit den längerkettigen Alkanolen für $n = 11 - 14$ gegeben ist. In den Positionen $C_3(sn1)$ und $C_2(sn1)$ verhält sich Decanol aber wie Octanol und Nonanol, d. h. Decanol kann die Umwandlungstemperatur sowohl erhöhen wie auch erniedrigen.

Auch die Abbildung 35 (bzw. Tab. 13a) stimmt wieder mit dieser Zwitterrolle für Decanol überein.

Da Undecanol, anders als Decanol, nur mehr eine einzige, positive Regressionskonstante a_1 aufweist (Abb. 35) und auch in Abb. 23 eindeutig zur Gruppe der Kettenlängen $n = 11 - 14$ zählt, muß man schließen, daß seine Eindringtiefe in die DML-Membran im Mittel gerade so groß ist wie die der $sn2$ -Lecithinkette; denn die beiden Werte $sn2 + 1$ beziehungsweise $sn2 - 1$ für die Adsorption an $C_4(sn1)$ beziehungsweise $C_2(sn1)$ heben sich, statistische Gleichbesetzung vorausgesetzt, gegeneinander auf. In Anbetracht der Tatsache, daß unter den gegebenen experimentellen Bedingungen, d. h. mit einer $1.25 \cdot 10^{-4}$ molaren DML-Dispersion, die ein Promill N-phenyl-naphthylamin als Fluoreszenzindikator enthält, mit Pentadecanol und den höheren Homologen bis zur Instabilitätsgrenze der alkoholdotierten Membran kein Wegfall des Vorumwandlungspunktes mehr erreicht werden kann (vgl. Tab. 11, S. 184), ist mit Blick auf die Werte der Tabelle 14 für die Eindringtiefe der Schluß sinnvoll, daß in Dimyristoyllecithin eingebaute Alkanole, die länger sind als n-Tetradecanol, über die Mitte

der Lipiddoppelschicht hinausragen (vgl. Abb. 39b, S. 261). Das trifft zum ersten Mal für Pentadecanol zu, und zwar auf allen drei möglichen Adsorptionspositionen (Tab. 14, S. 270). Tetradecanol hingegen hat exakt dieselbe effektive Länge wie die sn1-Lecithinkette, aber nur dann, wenn sein C₁-Atom auf der Höhe von C₂ der sn1-Kette liegt, und wenn es gleichzeitig eine 2g1-Kinke enthält. Vielleicht ist mit diesem fixierten Einbauort des Tetradecanols (Tab. 14) auch sein Minimum der kritischen Konzentration der Vorumwandlung (Tab. 11) verknüpft. Ein Tetradecanolmolekül in einer DML-Matrix unterscheidet sich im hydrophoben Membranbereich praktisch durch nichts von der benachbarten sn1-Lecithinkette, mit Ausnahme einer zusätzlichen 2g1-Kinke. Diese stellt aber keine Fehlstelle im Lipidgitter dar, sondern Kinken sind im betrachteten Temperaturbereich ($T < T_H$) vielmehr sogar charakteristische Strukturmerkmale. Man kann also sagen, daß Tetradecanol im unpolaren Inneren der Doppelschicht quasi ein halbes DML-Molekül ersetzt, allerdings fehlt ein Analogon zur polaren Kopfgruppe des Lecithins. Schließlich fällt noch auf, daß für die Alkohole der Kettenlängen $n = 11 - 14$, die sich bevorzugt in die geförmigen DML-Bezirke einbauen und daher die Temperatur der Phasenhauptumwandlung heraufsetzen, die kritische Konzentration mit der Länge der Alkylketten abnimmt bis zum Minimum beim Tetradecanol (Abb. 23, S. 187), was in Zusammenhang zu stehen scheint mit der zunehmenden effektiven Eindringtiefe der Alkohole in die Membran bei ebenfalls

wachsender Kettlänge (Tab. 14, S.270).

Die Vorumwandlung können offensichtlich diejenigen Alkohole am effektivsten unterbinden (d. h. die zur Aufhebung der Vorumwandlung nötige Alkoholkonzentration ist am geringsten), die sich in Bezug auf ihre Länge am wenigsten vom (längeren) sn1-Fettsäurerest unterscheiden.

Zusammengefaßt läßt sich also für das in Abbildung 40 (S. 265) sowie Tabelle 14 dargestellte Modell der Alkanolinkorporation in eine DML-Matrix feststellen: Alkohole, die kürzer sind als die sn2-Lecithinkette, führen zu einer Erniedrigung der Temperatur der Phasenhauptumwandlung T_H . Sind sie gleichlang wie oder länger als die sn2-Kette und gleichzeitig kürzer als oder ebenso lang wie die sn1-Kette, so erhöhen sie diese Temperatur. Für beide Fälle existieren kritische Alkoholkonzentrationen, d. h. die Vorumwandlung kann jeweils bei einer, für den Alkohol charakteristischen, Konzentration zum Verschwinden gebracht werden. Kritische Konzentrationen findet man jedoch nicht mehr, wenn die Länge des der DML-Dispersion zugefügten Alkohols die der sn1-Kette übertrifft und der T_H -Wert ändert sich praktisch nicht im Vergleich zum reinen DML.

Auf ein Schema gebracht, lautet die Aussage:

- Länge (R-OH) < sn2: T_H -Erniedrigung; C (krit.)
Länge (R-OH) $\geq$ sn2 und $\leq$ sn1: T_H -Erhöhung; C (krit.)
Länge (R-OH) > sn1: T_H unverändert; kein C (krit.).

Das Modell für den Einbau langkettiger, gesättigter Alkohole in eine DPL-Matrix ist in den prinzipiellen Zügen gleich konzipiert wie für DML; es unterscheidet sich davon aber auch in einigen wesentlichen Aspekten, so z. B. in der durch Neutronenbeugung belegten Tatsache, daß die sn2-Kette eines DPL-Moleküls nur um 1.5 CH₂-Einheiten kürzer ist als die sn1-Kette (36). Das hat zur Folge, daß beide Fettsäureketten schon von Anfang an parallel zueinander verlaufen und die Carbonylgruppe der sn2-Kette mehr nach außen zum nächsten DPL-Molekül orientiert ist, anders als bei DML. Daher sind in DPL-Dispersion bei der Einlagerung eines Alkanols beide Carbonylgruppen gleich gut zur Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zum H-Atom der alkoholischen Hydroxylgruppe befähigt. Um zu einer Erklärung der Fluoreszenzkurven auf der gleichen Basis wie beim DML-Modell zu kommen, muß angenommen werden, daß in der DPL-Matrix zwei benachbarte DPL-Moleküle gegeneinander um drei CH₂-Gruppen versetzt sind.

Diese Verhältnisse sind in Abbildung 41 (S. 276) für ein in die DPL-Doppelschicht inkorporiertes Undecanolmolekül im Ausschnitt gezeigt.

Ein Vergleich mit der Abbildung 40 (für DML, S. 265) zeigt die Differenz in der Polymerstruktur der beiden homologen Lecithine auf: Während die hydrophobe Wechselwirkung genau in der Membranmitte, dort, wo die Methylenden der Fettsäuren der oberen Doppelschichthälfte an die der unteren grenzen, im DPL-Aggregat durch eine Kurve

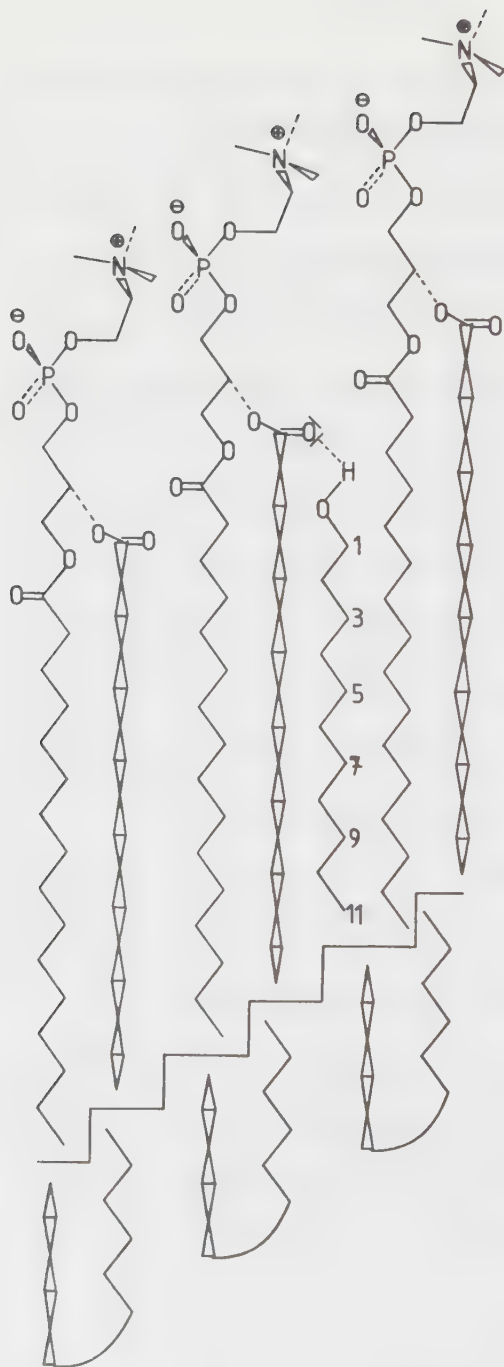


Abb. 41:
Undecanol in DPL
(GELPHASE)

gleicher Stufenhöhe beschrieben werden kann (oder durch eine Sinusfunktion konstanter Amplitude), ergeben sich für DML abwechselnd große und kleine Stufenhöhen (oder ein Sinus alternierender Amplitude).

Der zweite wichtige Unterschied zwischen DML und DPL ist in Abbildung 42 noch einmal gesondert herausgezeichnet.

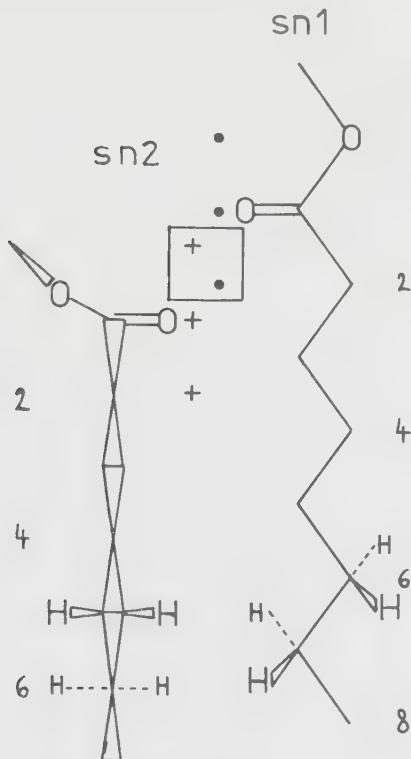


Abb. 42: Wasserstoffbrückenbindungen in DPL .

(+,•: Positionen des Alkanol-H-Atoms;

sn1, sn2: Palmitoylreste zweier DPL-Moleküle).

Durch die Äquivalenz der beiden Carbonylsauerstoffatome zur H-Brückenbindung in DPL ergeben sich hier insgesamt sechs für diese stabilisierende Wechselwirkung mögliche Positionen des eingebauten Alkoholmoleküls, von denen die zwei, die zwischen den Sauerstoffen der Carbonyle liegen, vor den anderen dadurch ausgezeichnet sind, daß das H-Atom des Alkohols hier in eine "zweifache" Wasserstoffbrücke integriert werden kann (durch ein Rechteck hervorgehobene Stellungen in Abb.42), welche stabiler sein dürfte als eine normale H-Brückenbindung. Die Punkte in Abbildung 42 zeigen die Lagen des alkoholischen Wasserstoffs für die Brücke zur sn1-Kette, wenn das C₁-Atom des Alkohols auf der Höhe von C₄, C₃ und C₂ der sn1-Kette liegt, die Kreuze die entsprechenden Positionen, wenn die Brücke zur sn2-Kette geschlagen wird. Zur Vereinfachung der Tabelle 15 (S. 279), und weil die Verschiebung bei der Fettsäurereiste gegeneinander über die gesamte Kettenlänge konstant 1.5 CH₂-Einheiten beträgt ⁽³⁶⁾, wird die Nummerierung der C-Atome der sn2-Kette des linken DPL-Moleküls auf die sn1-Kette des rechten DPL-Moleküls der Abbildung 41 (S. 276) zurückgeführt und die Eintauchtiefe des eingebauten Alkohols in die DPL-Membran im Vergleich zur Länge der sn1-Kette angegeben.

Das sei demonstriert am Beispiel von Undecanol, d. h. mit Hilfe der Abbildung 41: In der tiefsten möglichen Position kommt das C₁-Atom des Undecanols auf die Höhe des C₄-Atoms der sn2-Kette zu liegen, entsprechend der

Nummer 5.5 der sn1-Kette. Undecanol bildet in dieser Stellung nur eine H-Brücke zur sn2-Kette aus, und es reicht um die Länge einer halben CH₂-Gruppe (-0.5 in Tab. 15) weniger tief ins Membraninnere als die sn1-Kette. Führt man diesen Längenvergleich für alle getesteten Alkohole jeweils in allen sechs Positionen (C₁(ROH) auf 5.5 2) durch, welche die Alkanole in einer oder zwei H-Brücken fixieren, so erhält man die in Tabelle 15 zusammengestellten Eindringtiefen, die sich auf die sn1-Kette beziehen. Die Alkohole sind dabei wieder in der all-trans-Konformation eingebaut, wenn nicht ein (K) darauf hinweist, daß in dieser Anordnung eine 2g1-Kinke vorliegt.

C ₁ auf (R-OH)	5.5	4.5	4	3.5	3	2
8-OH	-3.5	-4.5	-5	-5.5	-6	-7
9-OH	-2.5	-3.5	-4	-4.5	-5	-6
10-OH	-1.5	-2.5	-3	-3.5	-4	-5
11-OH	-0.5	-1.5	-2	-2.5	-3	-4
12-OH	-0.5(K)	-0.5	-1	-1.5	-2	-3
13-OH	+0.5(K)	-0.5(K)	0	-0.5	-1	-2
14-OH	+1.5(K)	+0.5(K)	0(K)	-0.5(K)	0	-1
15-OH	+2.5(K)	+1.5(K)	+1(K)	+0.5(K)	0(K)	0
16-OH	+3.5(K)	+2.5(K)	+2(K)	+1.5(K)	+1(K)	0(K)

< 1 H-Brücke > < 2 H-Brücken > < 1 H-Brücke >

Tab. 15: Eindringtiefen der Alkanole Octanol bis Hexadecanol in DPL.

C₁: C₁-Atom der Alkanole

C_{2-5.5}: C-Atome des sn1-Palmitoylrestes

K: 2g1-Kinke (im Alkohol).

Wie aus Abbildung 35 (S. 221) und Tabelle 13c (S. 214/5) zu ersehen ist, tritt eine Erhöhung der Hauptumwandlungstemperatur in DPL zum ersten Mal beim Undecanol auf. Dafür muß die in Abbildung 41 (S. 276) gezeigte, tiefste Stellung verantwortlich sein, in der die Länge des Undecanolmoleküls $sn1-0.5$ beträgt. Für alle Reichweiten, die kleiner sind als $sn1-0.5$, also für sämtliche Positionen von Octanol, Nonanol und Decanol, findet man laut Abbildung 35 eine Absenkung der Temperatur des Phasenüberganges, und die drei Alkohole liegen bei den kritischen Konzentrationen der Vorumwandlung (Abb. 24, S. 188) auf einer gemeinsamen Exponentialfunktion. Den Übergang zur T_H -erhöhenden Gruppe der Kettenlängen $n = 12-14$ markiert in DPL das Undecanol (in DML war es Decanol). Do-, Tri- und Tetradecanol partizipieren beim Einbau in die DPL-Membran also vorwiegend an den gelförmigen Lipidbezirken, erhöhen dadurch die Phasenhauptumwandlungstemperatur und liegen bei den kritischen Konzentrationen der Abbildung 24 auf einer gemeinsamen Geraden. Die dafür maßgeblichen Eintauchtiefen der Alkohole sind in Tabelle 15 durch Umrandung hervorgehoben. Es sind dies die beiden Werte 0 und -0.5 , d. h. der Alkylrest des Alkohols ist genauso lang (Differenz 0) wie die $sn1$ -Lecithinkette oder um 0.5 CH_2 -Einheiten kürzer (-0.5) als sie.

Das komplette Schema für die Eintauchtiefe von gesättigten Alkoholen in eine DPL-Matrix lautet also:

Länge (R-OH) < sn1-0.5: T_H -Erniedrigung; C (krit.)

Länge (R-OH) = sn1-0.5 und = sn1: T_H -Erhöhung; C (krit.)

Länge (R-OH) > sn1: T_H unverändert; kein C (krit.).

Bis hierher verläuft diese Diskussion also ganz analog wie für DML. Aufgrund der andersartigen geometrischen Anordnung der DPL-Moleküle haben aber in DPL-Dispersion, im Gegensatz zu DML, auch Penta- und Hexadecanol die Möglichkeit, exakt die Länge der sn1-Kette zu erreichen, was dann der Fall ist, wenn das C_1 -Atom der beiden Alkohole auf die gleiche Höhe zu liegen kommt wie das C_2 - beziehungsweise C_3 -Atom der sn1-Kette (Tab. 15, S. 279). Hierbei können sie jeweils eine Wasserstoffbrücke ausbilden, und es wäre dann zu erwarten, daß eigentlich auch eine kritische Konzentration auftreten müßte, d. h. die Vorumwandlung sollte ab einer bestimmten Alkoholkonzentration sowohl beim Abkühlen wie beim Aufheizen nicht mehr vorhanden sein, ganz wie für die kürzerkettigen Alkanole. Eine Inspektion der entsprechenden Meßwerte (S. 160 und S. 162) zeigt auch tatsächlich, daß bei einigen Konzentrationen von Penta- und Hexadecanol die Vorumwandlung im Abkühlzyklus fehlt. Die Werte sind aber nicht gut reproduzierbar; außerdem fällt auf, daß beim Aufheizen die Vorumwandlung durchwegs wieder auftritt. Es kann also nicht von einem Verschwinden des Vorumwandlungspunktes ab einer bestimmten Konzentration an Penta- oder Hexadecanol im bisher üblichen Sinn gesprochen werden. Als mutmaßliche Erklärung dieses seltsamen Effektes könnte man anführen, daß die primär an

C₂ oder C₃ der sn1-Kette adsorbierten Penta- und Hexadecanolmoleküle, wo sie durch eine Wasserstoffbrücke fixiert sind und die Vorumwandlung aufheben können, im Verlauf der etwa zwei Stunden dauernden Messung (das Aufheizen erfolgt in der zweiten Hälfte der Messung) um 1 beziehungsweise 1,5 CH₂-Einheiten tiefer ins hydrophobe Innere der Membran rutschen, entsprechend den Positionen 3.5 oder 4 der sn1-Kette. Diese neuen Lagen sind thermodynamisch stabiler, da sie je zwei H-Brücken ausbilden können. Die Folge ist aber, daß die Alkohole dann um die Länge von 1 beziehungsweise 1.5 CH₂-Gruppen über die Membranmitte hinausreichen und daher mit den Fettsäuren der gegenüberliegenden Doppelschichthälfte in räumlichen Konflikt geraten (vgl. Abb. 39b, S. 261). Das scheint auch die Situation zu sein, in der die Vorumwandlung dann beim Aufheizzyklus wieder auftritt, obwohl sie beim vorherigen Abkühlen derselben Dispersion gefehlt hat.

Dieser Interpretationsversuch stellt aber nur eine reine Spekulation dar.

Versucht man, dieses mit Hilfe der gesättigten Alkohole als Fremdstoffen in DML und DPL entwickelte Modell, das die Länge des in die Membran eingebauten Alkylteils in Abhängigkeit vom Adsorptionsort der Hydroxylgruppe mit der Richtung der Verschiebung der Temperatur der Phasenhauptumwandlung sowie mit der kritischen Alkoholkonzentration der Vorumwandlung verknüpft, auf membrangebundene Pheromone zu übertragen, so ergeben sich verschiedene Pro-

bleme. Strenggenommen darf man für diesen Vergleich nur Pheromonalkohole heranziehen, die sich in der all-trans-Konformation anordnen können und deren Kettenlänge 14 nicht übersteigt; für Kettenlängen größer als 14 existiert nämlich bei den gesättigten Alkoholen keine definierte kritische Konzentration, die all-trans-Anordnung wurde als Voraussetzung beim Einbau in die Dispersion bei der Erstellung des Modells verwendet und die Alkoholfunktion bestimmt über ihren Adsorptionsort die Eintauchtiefe der Alkylreste in die Membran. Exakt läßt sich somit nur E-9-Tetradecenol mit Tetradecanol vergleichen, denn die E-Doppelbindung ändert die all-trans-Konformation praktisch nicht, und beide Alkohole haben fast identische Länge. In DML-Dispersion ergibt sich, daß E-9-Tetradecenol wie Tetradecanol in die gelförmigen Lecithinbezirke inkorporiert wird; beide setzen die Temperatur der Phasenumwandlung in Abhängigkeit von der Konzentration in vergleichbarer Größenordnung herauf, während die kritische Konzentration der Vorumwandlung des Pheromons ungefähr doppelt so groß ist wie für sein gesättigtes Analogon. Auch in DPL bevorzugen beide beim Einbau die Gelphase, die Temperaturerhöhung durch E-9-Tetradecenol ist aber etwa um eine Zehnerpotenz geringer als durch Tetradecanol, während die kritischen Konzentrationen in etwa gleich sind (s. Tab. 11, S. 184; 12, S. 194/5; 13a-d, S. 210-217). Dieses Ergebnis läßt wiederum erkennen, daß sich die zwei Lecithine beim Einbau derselben Substanz unterschiedlich verhalten.

Da man vernünftigerweise immer Molekülpaare zueinander in Relation setzt, die nur in einer Strukturvariablen differieren, kann man E-9-Tetradecenol mit dem E-9-Tetradecenal vergleichen, um den Einfluß des Wechsels von der Alkohol- zur Aldehydgruppe abzuschätzen. Dabei ergibt sich für die kritischen Konzentrationen des Aldehyds in beiden Phosphatidylcholinen jeweils eine leichte Vergrößerung; der gravierende Unterschied tritt bei den Vorzeichen der Regressionskonstanten auf, welche das Verhalten der Hauptumwandlungstemperatur mit der Konzentration beschreiben: sowohl in DML wie in DPL bevorzugt E-9-Tetradecenal die fluid-kristallinen Lecithindomänen bei der Inkorporation, es ruft also, im Gegensatz zum E-9-Tetradecenol, eine Erniedrigung der Temperatur des Phasenüberganges hervor, und zwar in DPL stärker als in DML. Daraus muß man schließen, daß der "Ankerplatz" der Aldehydfunktion im polaren Oberflächenbereich der Lipidmembran ein anderer ist als für die Alkoholgruppe. Das trifft wahrscheinlich auch zu für die beiden untersuchten Acetate, Z-9-Tetradecenylacetat und Z-13-Octadecenylacetat, die aber nicht mehr unmittelbar zu E-9-Tetradecenol in Beziehung zu setzen sind, da sie sich von diesem bereits in drei beziehungsweise vier Strukturvariablen unterscheiden, nämlich der Substitutionsart der Doppelbindung, der funktionellen Gruppe, der effektiven Gesamtlänge sowie, beim Z-13-Octadecenylacetat, der Länge des Alkylteiles zwischen funktioneller Gruppe und Doppelbindung. Immerhin aber fällt bei beiden Acetaten in allen vier Fällen die Nichtlinearität des Tem-

peraturverhaltens mit der Konzentration auf, d. h. es existieren jeweils zwei Regressionskonstanten von unterschiedlichem Vorzeichen, Z-13-Octadecenylacetat in DPL ausgenommen. Dies bedeutet, daß die Acetate insgesamt keine eindeutige Präferenz für eine bestimmte Lipidphase aufweisen und erinnert an das analoge Verhalten von Decanol in DML beziehungsweise Undecanol in DPL.

Die Sonderstellung der Acetate wird auch schon durch die "inverse" Form der Fluoreszenzkurven dokumentiert, die nur bei ihnen zu finden ist.

An welcher Stelle im polaren Segment der Membran Acetate und Aldehyde adsorbiert werden und von welcher Art ihre Wechselwirkung mit den Lecithinmolekülen ist, kann aus den Fluoreszenzmessungen nicht ersehen werden.

Der Wechsel von der E- zur Z-Doppelbindung und sein Einfluß auf die experimentellen Konstanten sei am Beispiel E-9- versus Z-9-Tetradecenol erläutert, wobei zu beachten ist, daß das Z-Isomere effektiv um 1.5 CH₂-Einheiten kürzer ist. In DML sind die kritischen Konzentrationen ungefähr gleich, während in DPL-Dispersionen für Z-9:14-OH der doppelte Wert wie für E-9:14-OH gefunden wird.

Die Verschiebbarkeit der Hauptumwandlung auf der Temperaturskala verläuft für die zwei Pheromone gegensätzlich: Das E-substituierte Alkenol führt zu einer Erhöhung, Z-9-Tetradecenol hingegen zu einer kräftigen Erniedrigung; zusammen mit Z-9-Tetradecenylacetat zeigt es die stärkste bei den Pheromonen überhaupt gemessene Absenkung der Tempe-

ratur des Phasenüberganges.

Im Übrigen erniedrigen alle getesteten einfach ungesättigten Z-Alkohole die Phasenumwandlungstemperatur in beiden Lecithinen, sie haben negative Regressionskonstanten. Das wird qualitativ verständlich, wenn man sich vergegenwärtigt, daß die Pheromone beim Einbau in die Lipidmembran ihren durch die Z-Doppelbindung verursachten, fest vorhandenen Knick im Alkylteil an die sie einschließenden Fettsäuren weitergeben, welche diesem konformativen Zwang durch Ausbildung einer gauche-Bindung ausweichen. An allen Stellen, wo Z-Alkenole in die Membran eingebaut werden, entstehen also von vornherein Inseln größerer Unordnung in den ansonsten bei dieser Temperatur all-trans vorliegenden Fettsäuren. Dieser verminderte Ordnungsgrad entspricht dem Zustand, wie er bei reinen, undotierten Lecithinen erst nach der Hauptumwandlung auftritt, in der fluid-kristallinen Phase, wo sich Gaucheblöcke ausbilden. Man kann deshalb verallgemeinernd sagen, daß die Homologen Z-9-Tetra-, Z-11-Hexa- und Z-13-Octadecenol eine Pheromongruppe bilden, welche beim Einbau sowohl in DML wie in DPL die Temperatur des Hauptphasenüberganges herabsetzen und zwar mit kontinuierlich abnehmender Effektivität bei wachsender Kettenlänge (vgl. Abb. 33 und 34, S. 218 und 219).

Anders, nämlich diskontinuierlich, verhalten sich die kritischen Konzentrationen der Vorumwandlung dieser drei Substanzen, ebenfalls analog in beiden Lecithinen:

Bei der effektiven Kettenlänge von 14.5, für Z-11:16-OH

also, zeigt sich ein Minimum der kritischen Konzentration, in der Größe vergleichbar den wirksamsten gesättigten Alkanolen, Tri- oder Tetradecanol. Alle numerischen Werte zu diesen Aussagen sind im übrigen, wie auch bisher schon, den Tabellen 11 (S. 184) beziehungsweise 12 (S. 194/5) und 13 (S. 210-217) entnommen.

Interessant ist noch das Verhalten der konjugiert ungesättigten Dienole: In DPL geben sie, ähnlich wie die einfach ungesättigten Z-Alkenole, Anlaß zur Erniedrigung der Phasenumwandlungstemperatur, wobei die kritische Konzentration von Z-11,Z-13-Hexadecadienol mit 8 - 10 % etwas größer ist als die von Z-11-Hexadecenol mit 5 - 10 %, diejenige von Z-9,Z-11-Tetradecadienol mit 8 - 15 % aber deutlich kleiner ist als für Z-9-Tetradecenol mit 17 - 24 %. Werden die beiden Alkadienole jedoch in DML dispergiert, so bevorzugen sie beim Einbau die Gelphase der Lecithindomänen, sie erhöhen die Temperatur des Phasenüberganges und die kritischen Konzentrationen sind von ähnlicher Größenordnung. Dieser Aspekt geht gut konform mit der obigen Schlußfolgerung, daß die beiden homologen Lecithine DML und DPL bei der Inkorporation derselben Fremdschubstanz unterschiedlich reagieren können.

Daß bei den Pheromonen keine so ausführliche Modellbetrachtung wie für die gesättigten Alkohole erstellt wurde, sondern eher ein Rückzug auf interne und Quervergleiche der einzelnen Pheromone untereinander geboten ist, liegt einfach daran, daß für zu wenige Pheromone, die sich vonein-

ander nur in einer einzigen Strukturvariablen unterscheiden, Meßwerte vorliegen, die direkt in Relation gesetzt werden können. Während bei den Alkanolen auf elf homologe Substanzen zurückgegriffen werden kann, umfaßt die größte wirklich homologe Gruppe der Pheromone lediglich die drei Z-ungesättigten Alkenole der Kettenlängen $n = 14, 16$ und 18 .

Schließlich sei noch ein interessantes Phänomen erwähnt, nämlich das der Hysterese. Wie aus den Abbildungen 43 - 45 (S. 289 - 291) ersichtlich ist, entsprechen einer bestimmten Temperatur T (aufgetragen auf der Abszisse in $^{\circ}\text{C}$) jeweils zwei Werte der Fluoreszenzintensität F (aufgetragen auf der Ordinate, in willkürlichen Einheiten). Das heißt also, daß die sich beim Abkühlen der Lipiddispersion ergebende Fluoreszenzkurve insgesamt weder deckungsgleich mit noch exakt parallel ist zu der beim Aufheizen erhaltenen.

Abb. 43: Fluoreszenz - Hystereseurve von $1.25 \cdot 10^{-4} \text{ m}$ 1,2-Dipalmitoyllecithin (DPL) mit 1% N-phenylnaphthylamin (NPN) als Fluoreszenzindikator

Ordinate: Normierte Fluoreszenzintensität F in willkürlichen Einheiten

Abszisse: Temperatur in $^{\circ}\text{C}$. (Die Pfeile zeigen die Richtung der Temperaturänderung an).

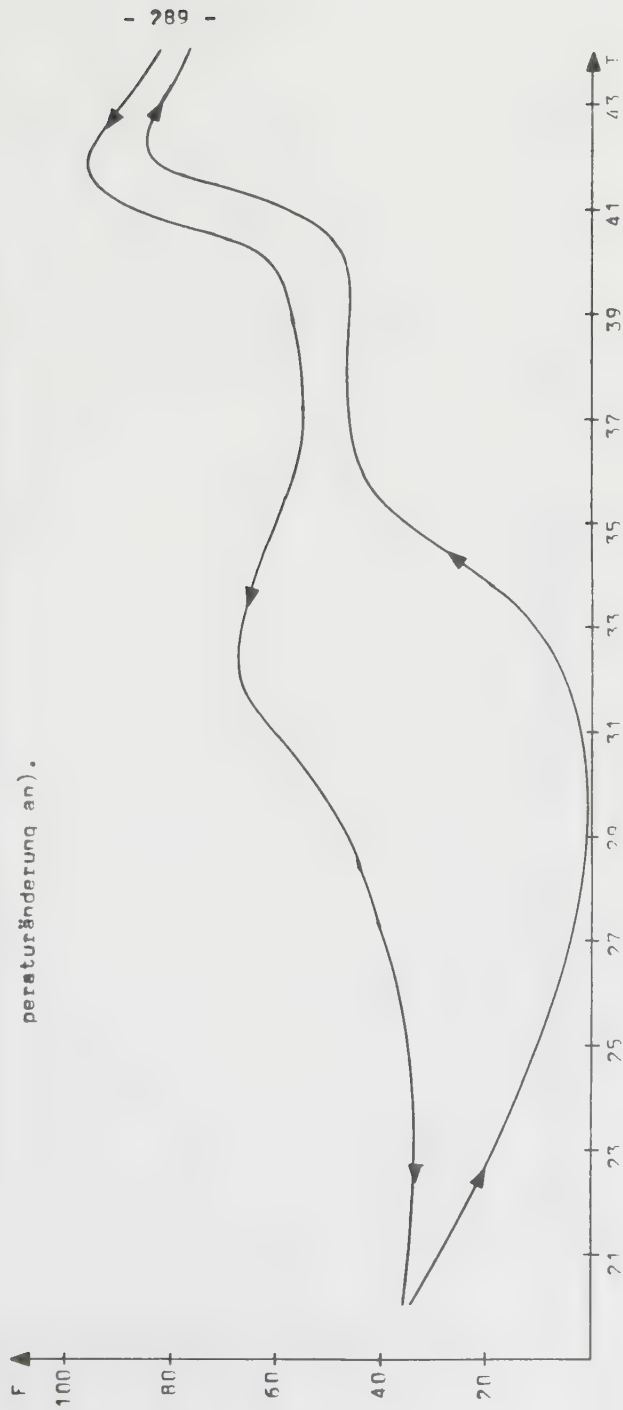


Abb. 44: Fluoreszenz - Hysteresekurve von $1.25 \cdot 10^{-4}$ m NDL / 1% NPN mit
 50 % Decanol-(1).
 (Legende wie Abb. 43).

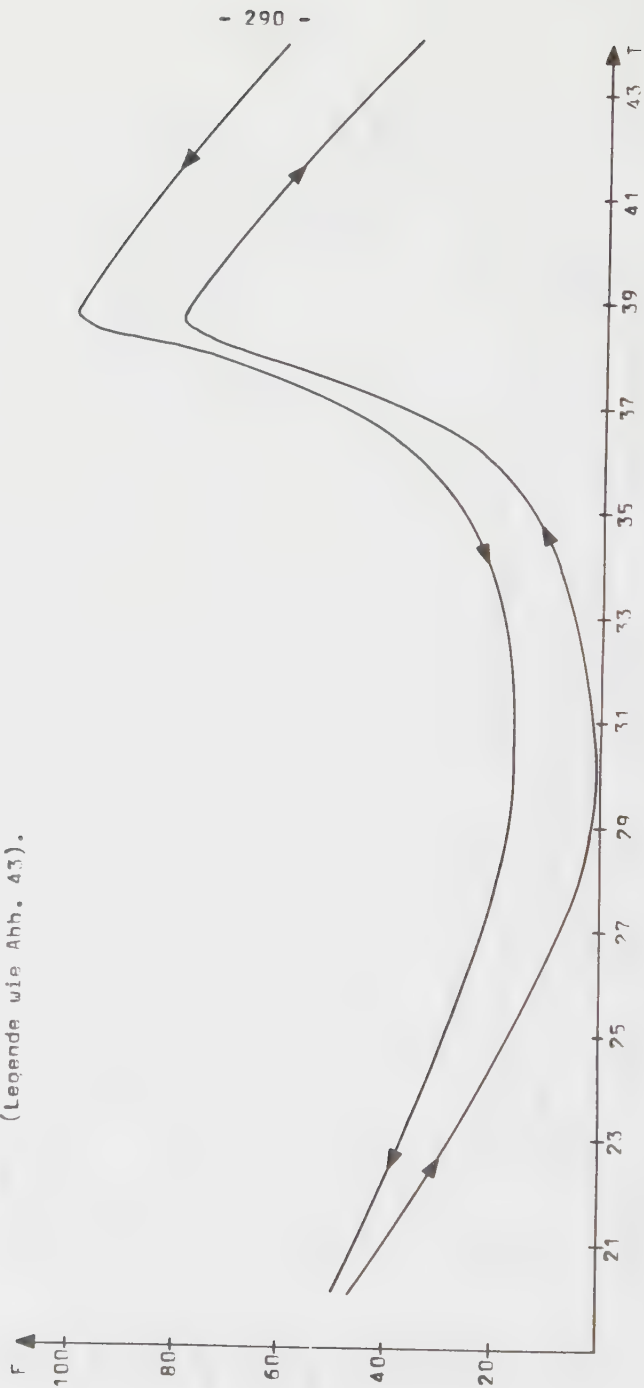
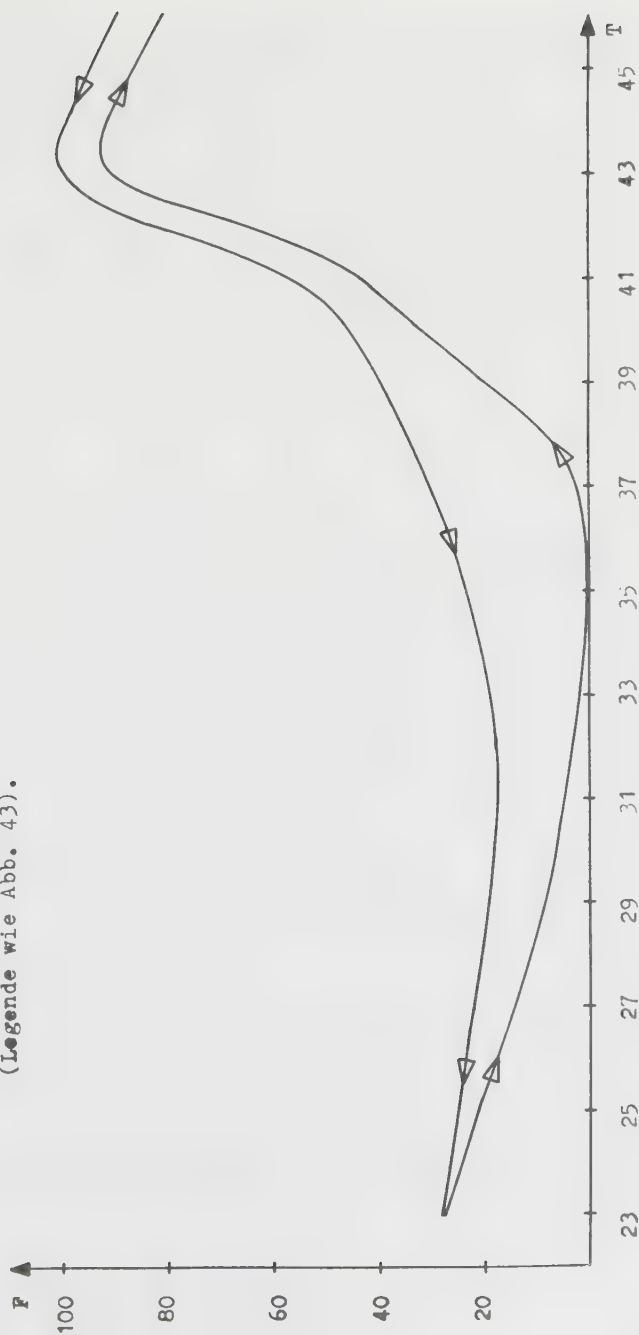


Abb. 45: Fluoreszenz - Hysteresekurve von $1.25 \cdot 10^{-4}$ m DPL / 1 % NPN mit
10 % Tetradecanol-(1).
(Legende wie Abb. 43).



Die Hysteresekurven der Abbildungen 43 - 45 resultieren aus den gemessenen Fluoreszenzintensitäten (vgl. Abb. 21, S. 129), indem man einfach die beiden Fluoreszenzwerte F des Abkühl- und Aufheizzyklus bei jeder Temperatur auf einer gemeinsamen T-Skala aufträgt.

Die Pfeile zeigen die Richtung der Temperaturänderung an und die Hysteresekurven sind, damit sie vergleichbar werden, normiert nach der Formel (176)

$$F = \frac{f - f_{\min}}{f_{\max} - f_{\min}} \cdot 100.$$

Hierin bedeuten f die Fluoreszenzintensität bei der gerade betrachteten Temperatur, $f_{\max}$ sowie $f_{\min}$ die Extremwerte der Fluoreszenzkurve und F die normalisierte Fluoreszenzintensität. Es zeigt sich, daß im Bereich der Vorumwandlung ausgeprägte Hystereseerscheinungen auftreten (s. Abb. 43), während dieser Effekt bei der Hauptumwandlung kleiner ist, aber vorhanden. Verschwindet die Vorumwandlung durch Zusatz von Alkanolen oder Pheromonen zur Lipiddispersion, so wird auch die mit der Vorumwandlung verknüpfte Hysterese reduziert (s. Abb. 44, 45).

Hysterese ergibt sich dann, wenn der Weg für die Umwandlung des Gelzustandes in die flüssig-kristalline Phase nicht identisch ist mit dem für den Übergang des fluid-kristallinen Zustandes in die Gelphase. Bei Temperaturen in der Nähe des Umwandlungspunktes sind Domänen (62, 80, 106, 114, 148, 176) der einen Phase in einer Matrix der anderen Phase vor-

handen. Domänen sind Strukturbereiche, deren Elementareinheiten (hier: Lipidmoleküle) ihren Ordnungsgrad kooperativ, d. h., als Gesamtheit, verändern können. Hysterese kann nun als Folge einer solchen Domänenstruktur interpretiert werden, denn die freie Energie einer Domäne aus flüssig-kristallinen Lipiden in einer Matrix der Gelphase unterscheidet sich von der einer gelförmigen Domäne gleicher Größe und Gestalt in einer flüssig-kristallinen Lipidmatrix, weil das molare Volumen der flüssig-kristallinen Phase größer ist als das der Gelphase (182). Eine Domäne aus fluid-kristallinen Lipiden steht unter Druck in einer Gelmatrix, während eine gelförmige Domäne in der flüssig-kristallinen Matrix einen Zug erfährt. Mit diesem Bild wird qualitativ plausibel, warum eine Phasenumwandlung in der einen Richtung nicht exakt so abläuft wie in der Gegenrichtung. Hysteretische Erscheinungen treten immer dann auf, wenn genügend hohe kinetische Energiebarrieren eine Gleichgewichtsumwandlung verhindern; Phasenübergänge können dann nur über den Umweg der Hysterese nach Passieren thermodynamisch metastabiler Zustände erfolgen (185). Hysterese ist also gebunden an Domänenstruktur, kooperative Wechselwirkung sowie Metastabilität.

Das Auftreten von Hystereseerscheinungen in diesem Zusammenhang ist in der Literatur wohlbekannt (28, 37, 52, 62, 88, 89, 93, 142, 173, 182, 185 - 187), speziell auch im Bereich der Vorumwandlung multilamellarer Phosphatidylcholin-dispersionen (90, 176). Interessant hierbei ist, daß die Vorum-

wandlung beim Abkühlen langsamer verläuft als beim Aufheizen (92). Ein schönes Beispiel für Hysterese einer Nervenmembran wurde gefunden im Temperaturverhalten der Erregbarkeit des Riesenaxons von Tintenfischen (188). Deutliche Hystereseschleifen sind außerdem durch Röntgenstrukturanalysen von Membranen, Lipoproteinen und den (heterogenen) Lipiden aus *Escherichia coli* nachgewiesen worden (189), sowie bei den geladenen (homogenen) Lipiden von 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoserin (190). Hysterese scheint daher eine sowohl für natürliche wie künstliche Membranen relevante Erscheinung zu sein. Änderungen von Membranpotential und -leitfähigkeit können als elektrochemische Manifestation von Phasenumwandlungen aufgefaßt werden (188). Durch Pheromone induzierte Konformationsänderungen in Membranen und temperaturabhängige hysteresisähnliche Elektroantennogramme (140) werden als möglicher Mechanismus für elektrisch kontrollierte Regelvorgänge und insbesondere für die Aufzeichnung elektrischer Signale diskutiert. Da metastabile Zustände außer in Membranen auch in Nukleinsäuren auftreten (185), kommt der Hysterese in diesen Systemen wahrscheinlich fundamentale Bedeutung für zentrale Lebenserscheinungen wie Erfahrungsgedächtnis oder biologische Rhythmen zu.

4. Ausblick

Langkettige Alkohole und Pheromone beeinflussen den Aggregatzustand künstlicher Lecithinmembranen je nach ihrer Struktur. Mit den dargestellten Ergebnissen könnte man etwa spekulieren, daß ein auf eine gelförmige Membran auftreffendes Pheromonmolekül diese lokal fluidifiziert, dadurch einem vorhandenen Rezeptorprotein Diffusion und Beweglichkeit erleichtert und es ihm so ermöglicht, die in der Pheromonstruktur enthaltene chemische Information in einer Reihe konformativer Anpassungsschritte zu erkennen sowie schließlich die Membran als Rezeptor-Pheromon-Komplex ins Zellinnere zu passieren.

Da diese Ergebnisse aber weder an einem intakten Organismus, ja nicht einmal an einer natürlichen Membran erzielt wurden, sondern am denkbar einfachsten, nur aus einem einzigen Lecithin bestehenden Membranmodell, wäre obiger Schluß als Behauptung ungefähr genauso gewagt wie wenn man nach der Lektüre einer Seite oder bestenfalls eines kleinen Kapitels eines dicken Buches vorgeben wollte, seinen Inhalt bereits zu kennen.

Das Modell muß also der Natur besser angepaßt werden. Einen ersten Schritt in diese Richtung stellen die Lecithingemische aus zwei oder drei Komponenten des Kapitels IV.1.4. dar. Hat man auf diese Weise die Lipidzusammensetzung einer bestimmten Membran angenähert, so sind noch die richtigen Proteine am richtigen Ort funktionsfähig einzubauen, um die

natürliche Membran zu imitieren. Sollte sich dieser Weg als zu komplex herausstellen, besteht daneben die Möglichkeit, eine natürliche Membran aus einem Organismus zu isolieren, wobei sie allerdings intakt bleiben muß.

Der hier mit Pheromonen und pheromonähnlichen Substanzen gefundene Effekt der Verfestigung oder Verflüssigung einer Modellmembran ist schließlich nicht nur bei der pheromon-vermittelten Kommunikation von Insekten interessant, sondern ebenso überall dort, wo irgendwelche Lebensvorgänge an Membranen gekoppelt sind, also praktisch in jeder Zelle. Zum Beispiel diskutiert man die pharmakologische Wirkung einer ganzen Reihe von Drogen, Anästhetika und Antidepressantien sowie das Phänomen des Alterns unter diesem Aspekt. Gleichfalls wurden bereits neue medikamentöse Applikationsverfahren auf dieser Basis vorgeschlagen (191): Oberhalb der Temperatur der Phasenhauptumwandlung sind Lecithinmembranen durchlässig für Fremdsubstanzen, etwa in Liposomen eingeschlossene Medikamente gegen z. B. Infektionen oder Tumore. Diese thermisch induzierbare Öffnungsmöglichkeit macht man sich zunutze, indem man Liposomen konstruiert, die bis knapp über der Körpertemperatur stabil sind. Das Medikament in den Liposomen kann im ganzen Körper kreisen, freigesetzt wird es aber nur am Erfolgsort durch sogenannte lokale Hyperthermie, worunter man die temperaturabhängige Öffnung der Liposomen durch Überschreiten der Phasenübergangstemperatur versteht, etwa mittels Bestrahlung durch Mikrowellen. Liposomen von geeigneter Phasenübergangstempe-

ratur erhält man, indem man Dipalmitoyl- und Distearoyllecithin im geeigneten Verhältnis mischt; nach Ultraschallung zur Dispergierung, Porenfiltration und Gelchromatografie ergeben sich kleine, unilamellare Vesikel mit der gewünschten Eigenschaft.

V. Zusammenfassung

Biologische Membranen sind wesentliche Bestandteile aller lebenden Organismen, vom kleinsten, membranumschlossenen Virus bis hin zur eukaryotischen Zelle, welche höhere Lebewesen wie den Menschen konstituiert. Die große Mehrheit biologischer Membranen basiert auf der Lipiddoppelschicht, die durch Dispersion synthetischer oder natürlicher Phospholipide in einem Überschuß an Wasser dargestellt werden kann. Studien des physikalischen Zustandes und der Dynamik der Lipiddoppelschicht sind nicht nur deswegen interessant, weil es sich bei ihr aus physikalischer Sicht um flüssige Kristalle handelt, sondern auch, weil man sich davon ein tieferes Verständnis der unterschiedlichsten Lebensprozesse erhofft und daneben medizinische Anwendungsmöglichkeiten zu erwarten sind.

In Abhängigkeit von der Art der sie aufbauenden Lipide, dem Gehalt an lipidfremden Substanzen sowie Druck und Temperatur befinden sich natürliche und künstliche Membranen in verschiedenen Aggregatzuständen. Die bei tiefer Temperatur vorhandene solide Gelphase wandelt sich beim Erwärmen über einen Zwischenzustand in die fluid-kristalline Phase um. Dieses spezielle Temperaturverhalten von zu einer Doppelschicht polymerisierten Lecithinmolekülen ist eine Folge ihrer chemischen Struktur, die sich aus einer hydrophilen, polaren Kopfgruppe und einem hydrophoben, unpolaren Alkylteil zusammensetzt. Die drei unterschiedlichen Phasen

treten auch auf, wenn die künstliche Membran nur aus einem einzigen synthetischen Lecithin besteht. Sie sind durch die zwei Temperaturen der Vor- und der Hauptumwandlung, T_V und T_H , voneinander getrennt, die bei den Lecithinen charakteristisch von der Kettenlänge n der Fettsäuren im Lecithinmolekül abhängen. Verwendet werden drei homologe gesättigte Phospholipide: 1,2-Dimyristoyl-, 1,2-Dipalmitoyl- und 1,2-Distearoyllecithin mit den Kettenlängen $n = 14$ (DML), 16 (DPL) und 18 (DSL).

Versetzt man eines dieser Lecithine mit einer minimalen Menge (1%) des Fluoreszenzindikators N-Phenyl-naphthylamin (NPN), unterzieht die wässrige Dispersion einer kontinuierlichen Temperaturänderung und zeichnet die Fluoreszenzintensität als Funktion der Temperatur auf, so ergibt sich eine Fluoreszenzkurve, deren Wendepunkte die Vor- und die Hauptumwandlung markieren. Die mit dieser Fluoreszenzmethode gefundenen Phasenumwandlungstemperaturen stimmen im Rahmen der Meß- und Auswertungsgenauigkeit mit den durch andere physikalische Verfahren erhältlichen Temperaturkonstanten überein. Als Fremdstoffe kann man, neben anderen, gesättigte langkettige Alkohole und Pheromone in die Lecithinmatrix einbauen. Systematisch untersucht wird der Einfluß der 1-Alkanole der Kettenlängen C_8 bis C_{20} , also Octanol bis Eicosanol, auf DML- und DPL-Modellmembranen. Die in die Lecithindispersion inkorporierten Alkohole zeigen eine doppelte Wirkung: Zum einen verschieben sie, je nach Kettenlänge, die Hauptumwandlungstemperatur im Vergleich zur rei-

nen Lecithindispersion zu tieferer oder höherer Temperatur; gleiche Konzentrationen verschiedener Alkohole zeigen dabei unterschiedliche Effizienz. Zum anderen existiert für jeden untersuchten Alkohol mit weniger als fünfzehn C-Atomen sowohl in DML wie in DPL eine sogenannte kritische Konzentration, bis zu welcher in der Fluoreszenzkurve die Vorumwandlung auftritt, oberhalb welcher diese jedoch fehlt. Die kritische Konzentration beseitigt also die Vorumwandlung. Sie ist für jeden Alkohol charakteristisch und nimmt mit wachsender Kettenlänge der Alkohole kontinuierlich nach Exponential- bzw. Geradenfunktionen ab. Bei Tetradecanol ist in beiden Lecithinen das Minimum der kritischen Konzentration erreicht. Für die längererkettigen Alkanole wird mit 1% NPN keine kritische Konzentration mehr gefunden, vielmehr bleibt die Vorumwandlung bei Vergrößerung der Alkoholkonzentration erhalten bis die Dispersion instabil wird, wodurch eine Auswertung der Fluoreszenzkurve unmöglich ist. In DML-Matrix führen Octanol und Nonanol zu einer Erniedrigung der Temperatur der Phasenhauptumwandlung, Undecanol bis Tetradecanol zu einer Erhöhung. Decanol muß beiden Gruppen zugeordnet werden. In DPL dispergiert hingegen, senken die Alkanole der Kettenlänge C_8 mit C_{10} die Phasenübergangstemperatur ab, C_{12} - mit C_{14} -Alkohole erhöhen sie. Hier zeigt Undecanol beide Eigenschaften. Die Richtung der Verschiebung der Hauptumwandlungstemperatur korreliert mit dem bevorzugten Einbau der diversen Alkohole in gelförmige bzw. fluid-kristalline Lecithindomänen.

Ferner können die beobachteten Effekte in Beziehung gesetzt werden zu einem Modell, welches die Eintauchtiefe der Alkanole ins Membraninnere in Abhängigkeit von der Fixierung der alkoholischen Hydroxylgruppe im polaren Bereich der Membran beschreibt. Das Modell berücksichtigt auch konformative Strukturunterschiede der sn2-Fettsäurekette in DML und DPL und daraus sich ergebende Konsequenzen. Außer den gesättigten Alkoholen wird ebenso eine Gruppe von Pheromonen der Kettenlänge C_{14} bis C_{18} im Hinblick auf ihre Auswirkungen auf das Phasenverhalten von DML und DPL untersucht.

Es handelt sich um ein- oder zweifach E- oder Z-ungesättigte Alkohole, Aldehyde und Acetate, deren Endalkylteil konstant gehalten wird, sodaß nur die Länge der Alkylkette zwischen funktioneller Gruppe und Doppelbindung variiert. Hier werden, anders als bei den analogen gesättigten Alkoholen, kritische Konzentrationen auch dann gefunden, wenn die effektive Länge der Pheromone die einer C_{14} -Kette überschreitet. Das muß auf die vorhandene Doppelbindung zurückführbar sein. Die getesteten Pheromone können nur dann nach dem für die analogen gesättigten Alkohole entwickelten Modell beurteilt werden, wenn sie sich in nicht mehr als einer Strukturvariablen von ihnen unterscheiden. Ist dies nicht der Fall, so sind nur Vergleiche der Pheromone untereinander möglich. Für alle Pheromone existiert eine kritische Konzentration der Vorumwandlung, und wie die Alkanole verschieben sie, je nach Struktur und Konzentration, die Hauptumwandlung mehr oder weniger zu tieferer oder höherer Temperatur. Aus Wirkungs-

vergleichen kann man schließen, daß Aldehyde mit ihrer funktionellen Gruppe wahrscheinlich einen anderen Adsorptionsort in der Membran besetzen als ansonsten identische Alkohole. Acetate zeigen oberhalb der kritischen Konzentration eine Form der Fluoreszenzkurve, wie sie mit Aldehyden und Alkoholen nicht auftritt.

Ferner sind E-Alkenole in den Werten ihrer Hauptumwandlungstemperatur und kritischen Vorumwandlungskonzentration ihren gesättigten Analogen ähnlicher als Z-Alkenole.

Schließlich ergeben die zwei untersuchten konjugierten Dienole gegensätzliches Verhalten in beiden Lecithinen, ein weiterer Hinweis auf Strukturdifferenzen zwischen DML- und DPL-Modellmembranen.

VI. Literaturverzeichnis

Abkürzungen:

BBA:	Biochim. Biophys. Acta
BBRC:	Biochem. Biophys. Res. Comm.
FEBS:	Fed. Eur. Biochem. Soc.
JACS:	J. Amer. Chem. Soc.
PNAS:	Proc. Nat. Acad. Sci. USA
TIBS:	Trends in Biochemical Sciences

- 1) S. Watabe und N. Yago, BBRC 110, 934 (1983).
- 2) T. Todo et al., ibid. 110, 609 (1983).
- 3) D. Georgescauld und H. Duclohier, ibid. 85, 1186 (1978).
- 4) Chemical & Engineering, July 9, p. 8 (1979).
- 5) A. Kusumi et al., Biochemistry 22, 1165 (1983).
- 6) P. N. Tyminski et al., ibid. 21, 1197 (1982).
- 7) U. P. Andley und B. Chakrabarti, ibid. 20, 1687 (1981).
- 8) N. R. Clement und J. M. Gould, ibid. 20, 1539 (1981).
- 9) W. A. Cramer et al., ibid. 20, 157 (1981).
- 10) E. Frömter, "Stofftransport durch biologische Membranen",
in Biophysik, S. 328, Hrsgbr. W. Hoppe u. a., Springer
Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1978.
- 11) R. Pellkofer und K. Sandhoff, Journal of Neurochemistry
34, 988 (1980).
- 12) S. J. Singer und G. L. Nicolson, Science 175, 720 (1972).
- 13) P. N. T. Unwin und G. Zampighi, Nature 283, 545 (1980).

- 14) G. van Meer et al., Biochemistry 20, 1974 (1981).
- 15) P. L. Yeagle et al., J. Biol. Chem. 251, 2110 (1976).
- 16) H. J. Galla und J. Luisetti, BBA 596, 108 (1980).
- 17) H. J. Galla et al., Chemistry and Physics of Lipids 23, 239 (1979).
- 18) E. Wu et al., Biochemistry 16, 3936 (1977).
- 19) R. D. Keynes, Spektrum der Wissenschaft 5, 75 (1979).
- 20) J. Teissie und T. Y. Tsong, Biochemistry 20, 1548 (1981).
- 21) L. M. Loew et al., ibid. 22, 837 (1983).
- 22) N. R. Clement und J. M. Gould, ibid. 20, 1544 (1981).
- 23) J. Fuhrhop, Nachr. Chem. Tech. Lab. 28, 792 (1980).
- 24) D. Chapman et al., Chem. Phys. Lipids 1, 445 (1967).
- 25) M. C. Phillips et al., ibid. 3, 234 und 304 (1969).
- 26) R. D. Ladbroke et al., BBA 150, 333 (1968).
- 27) D. M. Engelman, J. Mol. Biol. 47, 115 (1970).
- 28) H. Träuble, Naturwissenschaften 58, 277 (1971).
- 29) E. Shechter et al., Eur. J. Biochem. 49, 61 (1974).
- 30) A. G. Lee, BBA 472, 237 (1977).
- 31) S. Mabrey und J. M. Sturtevant, PNAS USA 73, 3862 (1976).
- 32) J. L. Browning, Biochemistry 20, 7133 und 7144 (1981).
- 33) S. C. Chen und J. M. Sturtevant, ibid. 20, 713 (1981).
- 34) R. H. Pearson und J. Pascher, Nature 281, 499 (1979).
- 35) M. M. Fuson und J. H. Prestagard, Biochemistry 22, 1311 (1983).
- 36) G. Büldt et al., Nature 271, 182 (1978).
- 37) P. Overath und H. Träuble, Biochemistry 12, 2625 (1973).
- 38) P. G. Barton und F. D. Gunstone, J. Biol. Chem. 250, 4470 (1975).

- 39) S. C. Chen et al., Biochemistry 21, 5096 (1982).
- 40) B. D. McKersie und J. E. Thompson, BBA 550, 48 (1979).
- 41) a) J. M. Boggs et al., Biochemistry 21, 1208 (1982).
b) L. S. Chia et al., FEBS Letters 157, 155 (1983).
- 42) D. A. Pink et al., Biochemistry 20, 7152 (1981).
- 43) a) P. L. Yeagle, Acc. Chem. Res. 11, 321 (1978).
b) H. U. Gally et al., Biochemistry 14, 3647 (1975).
- 44) a) J. B. Massey et al., ibid. 20, 1569 und 1575 (1981).
b) S. J. T. Mao et al., ibid. 20, 1676 (1981).
- 45) P. Overath et al., PNAS USA 67, 606 (1970).
- 46) K. Willecke und A. B. Pardee, J. Biol. Chem. 246,
5264 (1971).
- 47) M. K. Jain et al., Nature 255, 494 (1975).
- 48) S. H. White et al., ibid. 290, 161 (1981).
- 49) J. M. Sturtevant, PNAS USA 79, 3963 (1982).
- 50) B. J. Forrest et al., JACS 102, 1178 (1980).
- 51) B. J. Gaffney et al., Biochemistry 22, 881 (1983).
- 52) H. Träuble und H. Eibl, PNAS USA 71, 214 (1974).
- 53) H. Träuble und E. Sackmann, JACS 94, 4499 (1972).
- 54) H. Akutsu und J. Seelig, Biochemistry 20, 7366 (1981).
- 55) L. J. Lis et al., ibid. 20, 1771 (1981).
- 56) L. O. Sillerud und R. E. Barnett, ibid. 21, 1756 (1982).
- 57) K. S. Leonards und A. Haug, ibid. 20, 1784 (1981).
- 58) P. L.-G. Chong und A. R. Cossins, ibid. 22, 409 (1983).
- 59) H. J. Galla und J. R. Trudell, BBA 602, 522 (1980).
- 60) J. R. Trudell et al., PNAS 72, 210 (1975).
- 61) H. J. Galla und J. R. Trudell, BBA 599, 336 (1980).

- 62) D. B. Mountcastle et al., PNAS 75, 4906 (1978).
- 63) A. G. Lee, Nature 262, 545 (1976).
- 64) D. T. Edmonds, TIBS 6, 92 (1981).
- 65) S. W. Hui und N. B. He, Biochemistry 22, 1159 (1983).
- 66) K. W. Miller und D. M. Small, ibid. 22, 443 (1983).
- 67) F. T. Presti und S. J. Chan, ibid. 21, 3821 (1982).
- 68) F. T. Presti et al., ibid. 21, 3831 (1982).
- 69) J. M. Smaby und H. L. Brockman, ibid. 20, 718 und 724 (1981).
- 70) C. E. Dahl, ibid. 20, 7158 (1981).
- 71) R. Bittman et al., ibid. 20, 2790 (1981).
- 72) D. J. Vaughn und K. M. Keough, FEBS Letters 47, 158 (1974).
- 73) J. Dufourcq und C. Lussan, ibid. 26, 35 (1972).
- 74) T. K. Brunck und F. Weinhold, JACS 101, 1700 (1979).
- 75) H. Akutsu, Biochemistry 20, 7359 (1981).
- 76) C. Huang und J. T. Mason, PNAS 75, 308 (1978).
- 77) G. M. Bell et al., Chem. Rev. 81, 15 (1981).
- 78) G. Lagaly, Angew. Chem. 88, 628 (1976).
- 79) J. Seelig und J. L. Browning, FEBS Letters 92, 41 (1978).
- 80) S. W. Hui und D. F. Parsons, Science 190, 383 (1975).
- 81) H. Träuble, J. Membr. Biol. 4, 193 (1971).
- 82) H. J. Hinz und J. M. Sturtevant, J. Biol. Chem. 247, 6071 (1972).
- 83) D. Chapman et al., ibid. 249, 2512 (1974).
- 84) M. J. Janiak et al., Biochemistry 15, 4575 (1976).
- 85) E. J. Shimshick und H. M. McConnell, ibid. 12, 2351 (1973).

- 86) G. Kothe, Nachr. Chem. Tech. Lab. 26, 211 (1978).
- 87) E. Sackmann et al., Biochemistry 12, 5360 (1973).
- 88) S. C. Chen et al., PNAS 77, 5060 (1980).
- 89) J. M. Sturtevant et al., PNAS 76, 2239 (1979).
- 90) T. Y. Tsong und M. I. Kanehisa, Biochemistry 16, 2674 (1977).
- 91) H. Van Dael et al., BBRC 104, 173 (1982).
- 92) B. R. Lentz et al., Biochemistry 17, 4475 (1978).
- 93) L. A. Sklar et al., ibid. 16, 819 (1977).
- 94) E. Sackmann, "Struktur und molekulare Beweglichkeit in Lipidschichten und Triggerprozesse an biologischen Membranen", Vortrag vor der GDCH Erlangen-Nürnberg am 3. 2. 1983.
- 95) G. Kothe, "Kernspinlabel-Untersuchungen an flüssig-kristallinen Polymeren und Membranen", Vortrag vor der GDCH Erlangen-Nürnberg am 10. 2. 1983.
- 96) J. F. Nagle und D. A. Wilkinson, Biochemistry 21, 3817 (1982).
- 97) T. Y. Tsong, PNAS 71, 2684 (1974).
- 98) J. M. Seddon et al., Biochemistry 22, 1280 (1983).
- 99) R. A. Dluhy et al., ibid. 22, 1170 (1983).
- 100) R. Bansil et al., ibid. 19, 1938 (1980).
- 101) M. B. Jackson und J. M. Sturtevant, J. Biol. Chem. 252, 4749 (1977).
- 102) N. Albon und J. M. Sturtevant, PNAS 75, 2258 (1978).
- 103) N. A. Mazer und M. C. Carey, Biochemistry 22, 426 (1983).

- 104) A. G. MacDonald, BBA 507, 26 (1978).
- 105) G. Büldt und J. Seelig, Biochemistry 19, 6170 (1980).
- 106) S. W. Hui et al., PNAS 71, 5068 (1974).
- 107) H. Hauser et al., Biochemistry 21, 1061 (1982).
- 108) R. A. Burns et al., ibid. 22, 964 (1983).
- 109) K. Beyer und M. Klingenberg, ibid. 22, 639 (1983).
- 110) H. U. Gally et al., ibid. 20, 1826 (1981).
- 111) C. F. Schmidt et al., ibid. 16, 3948 (1977).
- 112) A. Blume et al., ibid. 21, 6220 (1982).
- 113) A. Blume et al., ibid. 21, 6243 (1982).
- 114) A. G. Lee et al., ibid. 13, 3699 (1974).
- 115) D. Marsh et al., ibid. 15, 3570 (1976).
- 116) R. M. Moriarty, K. P. Madden und H. J. Bestmann,
in Vorbereitung.
- 117) T. H. Fischer und T. P. Williams, Biochemistry 21,
5101 (1982).
- 118) L. W.-M. Fung et al., ibid. 22, 864 (1983).
- 119) R. Gilmore und M. Glaser, ibid. 21, 1673 (1982).
- 120) L. W. Engel und F. G. Prendergast, ibid. 20, 7338 (1981).
- 121) F. G. Prendergast et al., ibid. 20, 7333 (1981).
- 122) P. K. Wolber und B. S. Hudson, ibid. 20, 2800 (1981).
- 123) W. A. Petri et al., ibid. 20, 2796 (1981).
- 124) J. W. Nichols und R. E. Pagano, ibid. 20, 2783 (1981).
- 125) J. R. Lakowicz und D. Hogen, ibid. 20, 1366 (1981).
- 126) T. Uchida et al., ibid. 20, 162 (1981).
- 127) B. R. Lentz et al., ibid. 19, 1943 (1980).
- 128) M. P. Andrich und J. M. Vanderkooi, ibid. 15, 1257 (1976).

- 129) H. Katsikas und P. J. Quinn,
Eur. J. Biochem. 131, 607 (1983).
- 130) C. L. Bashford et al., BBA 426, 157 (1976).
- 131) Y. Kanaoka, Angew. Chem. 89, 142 (1977).
- 132) G. K. Radda, Curr. Topics Bioenerg. 4, 81 (1971).
- 133) G. K. Radda, Biochem. J. 122, 385 (1971).
- 134) N. J. Turro et al., Angew. Chem. 92, 712 (1980).
- 135) W. Kleemann und H. M. McConnell, BBA 419, 206 (1976).
- 136) G. Büldt und R. Wohlgemuth,
J. Membr. Biol. 58, 81 (1981).
- 137) P. Karlson und M. Lüscher,
Naturwissenschaften 46, 63 (1959).
- 138) H. J. Bestmann et al., Liebigs Ann. Chem. 1979, 1189.
- 139) R. Wax, Diplomarbeit,
Universität Erlangen-Nürnberg (1979).
- 140) H. J. Bestmann und K. Dippold,
Naturwissenschaften 70, 47 (1983).
- 141) IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, PNAS
74, 2222 (1977) und J. Biol. Chem. 242, 4845 (1967).
- 142) H. Träuble und P. Overath, BBA 307, 491 (1973).
- 143) T. Y. Tsong, Biochemistry 14, 5409 (1975).
- 144) D. H. Haynes und P. Simkowitz,
J. Membr. Biol. 33, 63 (1977).
- 145) G. K. Radda und J. Vanderkooi, BBA 265, 509 (1972).
- 146) Y. Lee et al., Can. J. Chem. 58, 110 (1980).
- 147) L. W. Reeves et al., ibid. 57, 747 (1979).
- 148) M. K. Jain und N. M. Wu, J. Membr. Biol. 34, 157 (1977).

- 149) A. G. Lee, *Biochemistry* 15, 2448 (1976).
- 150) A. G. Lee, *ibid.* 16, 835 (1977).
- 151) F. K. Hui und P. G. Barton, *BBA* 296, 510 (1973).
- 152) A. W. Elias et al., *ibid.* 448, 220 (1976).
- 153) M. K. Jain et al., *ibid.* 509, 1 (1978).
- 154) S. J. Paterson et al., *ibid.* 266, 597 (1972).
- 155) C. D. Richards et al., *Nature* 276, 775 (1978).
- 156) M. W. Hill, *BBA* 356, 117 (1974).
- 157) E. Oldfield und D. Chapman, *FEBS Letters* 23, 285 (1972).
- 158) T. Y. Tsong et al., *Biochemistry* 16, 3115 (1977).
- 159) R. D. Klausner et al., *J. Biol. Chem.* 255, 1286 (1980).
- 160) M. F. Ethier et al., *Biochemistry* 22, 1178 (1983).
- 161) P. B. Hitchcock et al., *PNAS* 71, 3036 (1974).
- 162) R. G. Griffin et al., *Biochemistry* 17, 2718 (1978).
- 163) H. Richard et al., *FEBS Lett.* 45, 136 (1974).
- 164) J. Seelig, *BBA* 515, 105 (1978).
- 165) S. Kohler und M. P. Klein, *Biochemistry* 16, 519 (1977).
- 166) J. Seelig und H. U. Gally, *ibid.* 15, 5199 (1976).
- 167) M. F. Brown und J. Seelig, *ibid.* 17, 381 (1978).
- 168) R. Skarjune und E. Oldfield, *ibid.* 18, 5903 (1979).
- 169) P. L. Yeagle et al., *ibid.* 17, 2707 (1978).
- 170) P. L. Yeagle et al., *ibid.* 16, 4344 (1977).
- 171) P. L. Yeagle et al., *ibid.* 15, 2121 (1976).
- 172) P. L. Yeagle et al., *PNAS* 72, 3477 (1975).
- 173) J. C. W. Shepherd und G. Büldt, *BBA* 514, 83 (1978).
- 174) E. Oldfield et al., *Biochemistry* 17, 2727 (1978).
- 175) A. Tardieu et al., *J. Mol. Biol.* 75, 711 (1973).

- 176) E. J. Luna und H. M. McConnell, BBA 466, 381 (1978).
- 177) G. L. Jendriasek und J. C. Mendible, *ibid.* 424,
149 (1976).
- 178) G. C. Newman und C. Huang, Biochemistry 14, 3363 (1975).
- 179) J. F. Nagle, J. Membr. Biol. 27, 233 (1976).
- 180) H. Hauser et al., J. Mol. Biol. 137, 249 (1980).
- 181) B. G. McFarland und H. M. McConnell, PNAS 68, 1274 (1971).
- 182) D. A. Wilkinson und J. F. Nagle, Analytical Biochemistry
84, 263 (1978).
- 183) K. Jacobsen und D. Papahadjopoulos, Biochemistry 14,
152 (1975).
- 184) A. Seelig und J. Seelig, *ibid.* 13, 4839 (1974).
- 185) E. Neumann, Angew. Chem. 85, 430 (1973).
- 186) H. J. Galla und E. Sackmann, JACS 97, 4114 (1975).
- 187) H. Träuble et al., Naturwissenschaften 61, 344 (1974).
- 188) I. Inoue et al., BBA 307, 471 (1973).
- 189) Y. Dupont et al., Nature 238, 331 (1972).
- 190) R. C. MacDonald et al., Biochemistry 15, 885 (1976).
- 191) M. B. Yatvin et al., Science 202, 1290 (1978).

Lebenslauf

Reinhard Martin Michael Wax

Geboren : 4. 3. 1949 in Wallersdorf

Eltern : Martin Wax, Mechaniker und
Kreszentia Wax, geb. Sagmeister

Volksschule : 1955 - 1959 in Wallersdorf

Gymnasium : 1959 - 1968 in Deggendorf

Abitur : Juli 1968

Wehrdienst : 1968 - 1970

Studienbeginn : Sommersemester 1970 an der
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

Diplomchemiker-

Vorprüfung : 1974

Diplomchemiker-

Hauptprüfung : Februar 1978

Diplomarbeit : März 1978 - März 1979
bei Prof. Dr. H. J. Bestmann

Dissertation : April 1979 - Juli 1983
bei Prof. Dr. H. J. Bestmann

Druck: Copy Center 2000
Obere Karlstraße 30
8520 Erlangen